
Princeton University Library
32101 074861558


Dei
Sub Numine
Viget



Archiv

für

Protistenkunde

begründet von

Dr. Fritz Schaudinn

herausgegeben

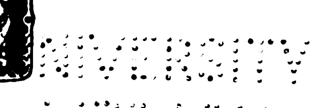
von

Dr. M. Hartmann und **Dr. S. von Prowazek**

Berlin Hamburg

Vierundzwanzigster Band

Mit 20 Tafeln und 24 Textfiguren



JENA

Verlag von Gustav Fischer

1912

Inhaltsübersicht.

Erstes Heft.

Zweites Heft.

Drittes Heft.

(Aus dem Zoologischen Institut der Universität Berlin.)

Über *Spirochaeta plicatilis* Ehrbg. und deren Verwandtschaftsbeziehungen.

Von

Margarete Zuelzer.

(Hierzu Tafel 1—4 und 2 Textfiguren.)

Inhaltsübersicht.

Einleitung.

Seit die Kenntnis der Spirochäten als Krankheitserreger in den letzten 6 Jahren ständig im Wachsen ist, haben Mediziner, Bakteriologen und Protozoenforscher eine ganze Reihe teils saprophytischer, teils pathogener Formen beschrieben. Trotzdem ist die Kenntnis der Morphologie und Biologie der Spirochäten nicht sehr weit gediehen und die Meinungen über Bau, Fortpflanzung uud Systematik der Spirochäten stehen sich schroff gegenüber.

Ehrenberg hat 1838 die Gattung *Spirochaeta* für den von ihm entdeckten Typus der Gattung, *Spirochaeta plicatilis* aufgestellt. Diese Form diente seitdem nur selten als Untersuchungsobjekt. Sie wurde von F. Cohn (1853) erwähnt und cytologisch von Bütschli (1896) und Schaudinn (1907) kurz beschrieben. Es schien mir von Wichtigkeit für die Spirochätenforschung, eine genauere Kenntnis von *Spirochaeta plicatilis* zu erhalten. Denn läßt man *plicatilis* Ehrenberg als Typus der Gattung *Spirochaeta* gelten, so muß für die Zugehörigkeit eines Organismus zu den Spirochäten eine Übereinstimmung ihres Baues mit dem von *Spirochaeta plicatilis* gefordert werden.

Ich will versuchen, den Bau der *Spirochaeta plicatilis* Ehrbg. näher zu beschreiben und im Anschluß daran die Beziehungen der als Spirochäten bezeichneten Organismen zu den echten Spirochäten zu besprechen.

I. Spezieller Teil: *Spirochaeta plicatilis* Ehrbg.

1. Biologie.

Der Grund, warum der Typus der Gattung *Spirochaeta*, diese große und verhältnismäßig deshalb gut zu untersuchende Form so selten und auch dann nur ganz vorübergehend als Untersuchungsobjekt diente, ist wohl in den biologischen Eigentümlichkeiten zu suchen, von welchen ihr Auftreten abhängt. Es wird angegeben, daß *Spirochaeta* nur vereinzelt auftrete und vor allen sich in Kulturgläsern nicht zu halten pflege, und man deshalb bei ihrem Studium auf ihr gelegentliches Vorkommen angewiesen sei. Deshalb ergriff ich die Gelegenheit mit Freuden, *Spirochaeta plicatilis* zu studieren,

als ich diesen seltenen Organismus in größeren Mengen im faulen See bei Berlin fand. Es bietet dieser See Eigentümlichkeiten, welche ich hier beschreiben muß, weil sie für die Biologie von *Spirochaeta plicatilis* von Bedeutung sind. Der faule See bei Berlin, der den Namen seinem starken Schwefelwasserstoffgeruch verdankt, ist ein natürlicher kleiner See mit verkrauteten Ufern, in welchen Draingräben der Berliner Rieselfelder einmünden. Die städtischen Abwässer enthalten Eiweißstoffe, Kohlehydrate, Fette, hochmolekulare Stickstoffverbindungen und ca. 0,07 Nährsalze. Eine reiche Flora und Fauna von Entfäulern baut diese Nährstoffe ab. Der Boden des Sees ist von schwarzem, fäulnisfähigem Schlamm bedeckt.

Durch die Tätigkeit der Mikroben entsteht bei der Zersetzung der Proteinkörper neben Ammoniak, Nitriten und Nitraten reichlich Schwefelwasserstoff. Der stark nach Schwefelwasserstoff riechende Schlamm ist verhältnismäßig arm an Organismusarten, während es im nährstoffreichen, freien Wasser von vielerlei Planktonorganismen wimmelt.

Die Oberfläche des fäulnisfähigen Schlammes ist überzogen von weißen, spinnwebartigen Schleiern von *Beggiatoa alba* und *arachnoidea.* Zwischen diesen Pilzgeflechten findet sich:

Lamprocystis roseo-persicina,
Thiospirillum sanguinum,
Zoogloea ramigera,
Oscillatoria princeps, limosa, formosa, chlorina, splendida;
gelegentlich Fäden von *Sphaerotilus natans*,
Thiothrix,
Larven von *Erystalis tenax*,
Rotifer actinurus,
Chaetonotus oxyura.

Vergesellschaftet mit diesen Organismen lebt *Spirochaeta plicatilis* Ehrenberg. Durch die ständig aufsteigenden Sumpfgasblasen wird das Beggiatoengeflecht häufig durchlöchert. Gelegentlich bei besonders starker Sumpfgasentwicklung werden ganze Stücke des Pilzgeflechtes emporgerissen und schwimmen an der Oberfläche des Sees. In diesen stark nach Schwefelwasserstoff riechenden Fladen wimmelt es geradezu von Spirochäten.

Ließ ich spirochätahaltigen Schlamm im Zimmer in offenen Gläsern einige Tage stehen, so setzte im Wasser eine lebhafte biologische Selbstreinigung ein. In solchen Kulturgläsern traten oft in großen Mengen auf:

Polytoma uvella,
Euglena acus und *viridis*,
Cryptomonas erosa,
Bodonen,
Chlamydomonaden,
fressende Protozoen wie *Paramaecium putrinum* und *caudatum*,
Colpidium colpoda,
Loxodes rostrum,
Nassula ornata.

Die Beggiatoahaut reinigt, indem die Pilzfäden den Schwefelwasserstoff verarbeiten und Schwefelkörner speichern. — *Spirochaeta plicatilis* speichert übrigens niemals Schwefel.

Ferner entwickelt sich eine reiche Flora von Naviculaceen, *Stigeoclonium* und lebhaft wuchernder Oscillatorien. Nach 3—5 Tagen beginnen durchlüftende Algen zu gedeihen und nach weiteren 3—5 Tagen ist infolge der biologischen Reinigung der Schwefelwasserstoff verschwunden und mit ihm die Spirochäten.

Brachte ich dagegen spirochätahaltigen Schlamm ($^3/_4$ Liter Schlamm, $^1/_4$ Liter Wasser) in Kulturgefäße, die ich fest verschlossen hielt, um durch Sauerstoffmangel ein Eintreten der biologischen Selbstreinigung zu verhindern, indem ich den diese verursachenden Organismen die Lebensbedingungen unterband, so konnte ich stets auf ein gutes Gedeihen von *Spirochaeta plicatilis* rechnen. Noch vorteilhafter fand ich es, das Kulturwasser mit Schwefelwasserstoff anzureichern. Ich erzielte dann eine starke Anhäufung von *Spirochaeta plicatilis*. Es gedieh unter diesen Kulturbedingungen mit *Spirochaeta* zusammen vor allem *Beggiatoa*; ferner *Thiospirillum sanguinum* und *winogradskii*, *Oscillatoria chlorina* und gelegentlich — dann aber in Schwärmen — *Rotifer actinurus* und *Chaetonotus maximus*. Ich reicherte das Kulturwasser in der Weise an, daß ich täglich frisch bereitetes Schwefelwasserstoffwasser tropfenweise zusetzte. — Noch besser fand ich es, auf den Kulturgläsern kleine, tiefe, mit Schwefelleber angefüllte Uhrschälchen schwimmen zu lassen. Die Schwefelleber zersetzt sich unter Schwefelwasserstoffentwicklung; die Kulturgläser müssen zugedeckt sein. Derartig gehaltene Kulturen sind arm an Organismen*arten*, aber *Beggiatoa* und *Spirochaeta plicatilis* gedeihen sehr üppig und überziehen die über Nacht in solche Kulturen versenkten Deckgläser dicht mit Beggiatoafäden und Spirochäten. Offenbar ist es also nicht nur der Sauerstoffmangel, sondern die Anwesenheit von Schwefelwasserstoff, die das üppige Gedeihen der Spirochäten bedingt.

Nachdem ich die Lebensbedingungen, unter denen die Spirochäta gedeiht, festgestellt hatte, konnte ich mir bald Spirochäten von den verschiedensten Fundorten verschaffen; denn ich konnte da, wo im Schlamme bei der Zersetzung von Proteinkörpern Schwefelwasserstoff entsteht, ziemlich sicher auf das Vorkommen von *Spirochaeta plicatilis* rechnen.[1]) — Ich fand *Spirochaeta plicatilis* jedoch nie in stinkender Fäulnis von Abwässern. Erst nachdem die ersten stürmischen Stadien der biologischen Selbstreinigung abgelaufen sind, tritt *Spirochaeta* auf; sie ist ein typisch „mesosaprober" Organismus (Kolkwitz 1909) und ist der von Lauterborn (1901) als sapropele Lebewelt bezeichneten Vergesellschaftung als charakteristische Leitform einzureihen. — Derartige biologische Verhältnisse finden sich beispielsweise in den tieferen Schichten des organischen Filzes auf den Koksstücken in den Füllkörpern biologischer Kläranlagen, und hier wimmelt es gelegentlich geradezu von Spirochäten. Auch in flachen Tümpeln, welche im Herbst durch fallendes, im Wasser sich zersetzendes Laub verunreinigt werden, gedeihen dann die Spirochäten üppig im Schlamm, ebenso wie in organisch verunreinigten Dorfteichen. In der Spree, welche innerhalb des Weichbildes von Berlin ziemlich stark verunreinigt ist, fand ich im Flußschlamm an verschiedenen Stellen geradezu Reinkulturen von Spirochäten.

Auch im Schlamme des Meeres gelang es mir, freilebende Spirochäten zu finden; ich suchte und fand sie unter denselben biologischen Bedingungen wie im Süßwasser, d. h. an seichten, organisch verunreinigten Stellen in schwefelwasserstoffhaltigem Schlamm. Beim Kultivieren dieser Formen brauchte ich das Kulturwasser mit weniger Schwefelwasserstoff anzureichern, um eine Anhäufung der Spirochäten zu erzielen, als im Süßwasser.

Ich fand gelegentlich *Spirochaeta plicatilis* im Meere bei Helgoland. In größeren Mengen stand sie mir im Golfe von Neapel zur Verfügung, als ich im Frühjahr 1910 an der Stazione zoologica in Neapel arbeitete.

Die oben beschriebene biologische Kulturmethode ermöglichte es mir, jederzeit so viel Spirochäten zu züchten, als für die nachstehenden Studien erforderlich waren.

Versuche, *Spirochaeta plicatilis* auf festen Nährboden zu züchten, sind im Gange.

---

[1]) Herr Prof. Kolkwitz war so freundlich, mich auf verschiedene Fundplätze aufmerksam zu machen, wofür ich ihm auch an dieser Stelle bestens danke.



2. Morphologie und Bewegungen.

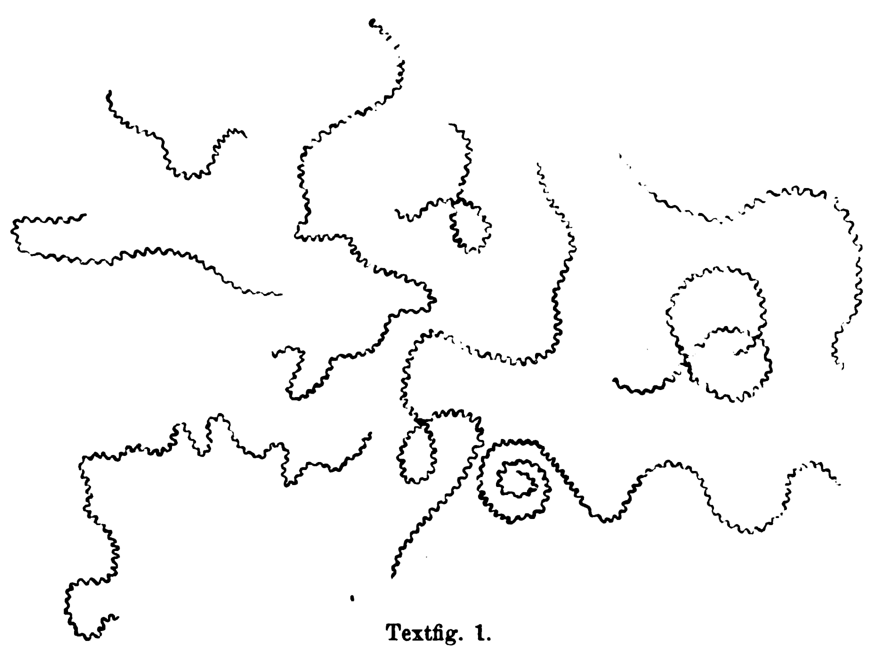
Spirochaeta plicatilis erreicht selten eine Länge von 500 μ, durchschnittlich ist sie 100—200 μ lang bei einer Dicke von $^1/_2$—$^3/_4$ μ. Der Körper ist in echten, sehr regelmäßigen Spiralen schraubenartig aufgewunden. Die Spiralen sind ziemlich steil (Photogr. 1). Der Körper ist drehrund, der Querschnitt ziemlich genau kreisförmig; der Spirochätenkörper ist nackt, d. h. von keiner morphologisch differenzierten Membran oder Cuticula umgeben. Der Spirochätenkörper wird von einer einschichtig wabigen Protoplasmaschicht gebildet, welche von einem schnurgeraden Achsenfaden durchzogen wird (Photogr. 1—4).

Im Plasma, dessen alveolärer Bau im Leben bereits deutlich erkennbar ist, treten lebhafte Plasmaströmungen auf, welche die Richtung wechseln können. Sie verursachen gelegentlich bei den sonst sehr formbeständigen Spirochäten Anschwellungen und Verdünnungen der Körperoberfläche. Schwieriger der Beobachtung zugänglich sind Rotationsströmungen im Plasma, welche um den Achsenfaden herum stattfinden und welche für die Ortsbewegung der Spirochäten von Wichtigkeit zu sein scheinen. Die geißellosen Spirochäten werden niemals im freien Wasser schwimmend angetroffen, sondern sie kriechen stets auf einer Unterlage — dem Schlamm, dem Oberflächenhäutchen usw. — wobei sie die Unterlage als Stützfläche benutzen; tastend, zitternd und bohrend schlängeln sich die Spirochäten ruhelos vorwärts. Oft zucken sie muskelartig blitzschnell zusammen. Sie kriechen schraubig, knicken plötzlich um und können schnell die Richtung wechseln, in der sie sich fortbewegen.

Im Leben fällt die stark lichtbrechende *Spirochaeta* unter anderen Organismen durch ihre überaus charakteristischen, ruhelosen Bewegungen auf. Die Körperspiralen sind sehr stabil und bleiben sowohl in der Ruhe wie bei den Bewegungen gleichmäßig steil erhalten. Es streckt sich die lebende *Spirochaeta plicatilis* auch niemals gerade aus, wie einige parasitische Formen. (z. B. *Spirochaeta refringens, buccalis*) deren Windungen sich bei den Bewegungen mehr oder weniger stark verändern. — Bei der Bewegung kommen gelegentlich große, unregelmäßige Spiralwindungen, in denen sich das ganze Tier vorwärts schlängelt, und welche bei jeder Bewegung die Größe wechseln können, zustande (Textfig. 1).

Häufig liegt ein Ende fest und ein Ende bewegt sich pendelnd bis lebhaft peitschenartig schlagend in freiem Wasser. Oder der

mittlere Teil der Spirochäta liegt auf der Unterlage fest und die beiden Enden schlagen nach entgegengesetzten Richtungen. Andere Bildungen kommen zustande, wenn die Spirochäta, was häufig geschieht, in Schlingen aufgewickelt daliegt und die beiden Enden



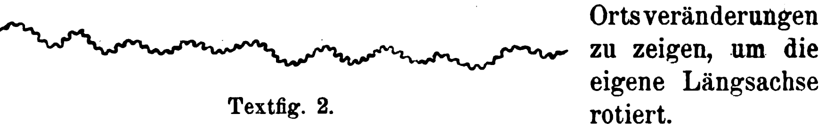
Textfig. 1.

Verschiedene Spirochäten in ihren mannigfaltigen Bewegungen nach dem Leben gezeichnet.

nach verschiedenen Richtungen vorwärts zu kriechen beginnen; das Tier streckt sich dabei in die Länge. Seltener windet sich die mittlere Partie des Körpers und die beiden Enden liegen still. Sehr häufig kommen zopfartige Verschlingungen zustande (Photogr. 7), welche unter Umständen Längsteilungen vortäuschen könnten. Gelegentlich bilden die Spirochäten an verschiedenen Stellen ihres langgestreckten Körpers zopfartige Verwickelungen — ein Zeichen ihrer großen Flexibilität (Photogr. 6). Bei den Vorwärtsbewegungen kommt sehr häufig eine Drehung um die eigene Längsachse zustande. Bei all diesen Bewegungen bleiben die kleinen, regelmäßigen Spiralen des Körpers unverändert erhalten.[1]) Eine der häufigsten Erscheinungsformen ist, wenn eine *Spirochaeta* in 4 oder 5 unregel-

[1]) Diese werden nur bei Schädigungen, z. B. Säuresatz, Antrocknen, aufgegeben.

mäßig großen weiten Spiralen, denen die kleinen regelmäßigen Körperspiralen superponiert sind (Textfig. 2) ohne nennenswerte Ortsveränderungen zu zeigen, um die eigene Längsachse rotiert.



Textfig. 2.

Die starke aktive Flexibilität unterscheidet die sehr elastischen Bewegungen der Spirochäten scharf von denen der pflanzlichen Organismen, wie z. B. von der Schwimmbewegung der geißeltragenden Spirillen mit ihrem, stets nur nach einer Richtung uhrfederartig zusammenschnellenden Körper, und den Krümmungen (KOLKWITZ 1896) und Gleitbewegungen der Oscillatorien und Beggiatoen.

3. Der feinere Bau von *Spirochaeta plicatilis.*

Der Spirochätenkörper bildet — wie schon erwähnt — eine echte Spirale. Diese kommt zustande, indem eine einschichtig wabige Protoplasmaschicht einen schnurgeraden Achsenfaden schraubenförmig umwindet; und zwar umgeben die schraubigen Touren den Achsenfaden allseitig, aber nicht gleichmäßig. Ich habe versucht, diese Verhältnisse, welche auf Photogr. 1 wiedergegeben sind, durch ein Schema zu verdeutlichen (Taf. 3 Fig. 3).

Ich schließe mich in dieser Auffassung des Spirochätenkörpers dem ersten cytologischen Untersucher der Spirochäta (BÜTSCHLI 1890) an. Neuerdings äußern sich verschiedene Spirochätenforscher, welche allerdings *Spirochaeta plicatilis* selbst nicht untersuchten, aus theoretischen Gründen abweichend zu dieser Frage. So meint SCHELLACK (1909): „BÜTSCHLI könnte den sogenannten Randfaden der undulierenden Membran als stabförmigen Zentralkörper (Achsenfaden) angesehen haben"; und GROSS (1910) meint, „daß BÜTSCHLI's Ausdrucksweise, die Rindenschicht (Plasma) umgäbe den Zentralkörper (Achsenfaden) allseitig nicht gleichmäßig, sondern umwinde denselben schraubenförmig, den Eindruck gewinnen lassen könnte, als ob der Achsenfaden außerhalb des Plasmas läge und Vergleichspunkte für eine undulierende Membran bieten könnte." Demgegenüber muß ich betonen, daß der Achsenfaden, welcher bereits im Leben durch seine stärkere Lichtbrechung als das Plasma gut erkennbar ist, den Körper durchzieht (Taf. 3 Fig. 3), d. h. er liegt überall im Innern des Spirochätenkörpers, zwar an der Peripherie, tritt aber nicht aus der Plasmaspirale heraus. Taf. 3 Fig. 3 b veranschaulicht schematisch eine Spirochätenwindung,

in welche verschiedene Querschnittsführungen eingezeichnet sind; die Querschnitte zeigen die Lage des Achsenfadens. Eine Analogie des Achsenfadens mit dem Randfaden einer undulierenden Membran ist demnach bereits durch die Lage ausgeschlossen. Taf. 3 Fig. 1a zeigt ein *Trypanosoma*, Fig. 1b dasselbe in Querschnitt. Der Randfaden der undulierenden Membran ist blau eingezeichnet. Es sollen hierdurch die morphologischen Unterschiede veranschaulicht werden, welche zwischen dem im Körperinnern zentral verlaufenden blau gezeichneten Achsenfaden mit dem ebenfalls blau gezeichneten Randfaden der Trypanosomen bestehen. Dieser begrenzt an der Außenseite die undulierende Membran, welche nach Bütschli (1887) „eine hautartig homogene, zarte Ausbreitung des Körperplasmas, welche längs der convexen Seite des Körpers hinzieht“, darstellt, eine Bildung, welche bei *Spirochaeta plicatilis* nicht vorhanden ist. — Schaudinn vertrat bekanntlich (1905) die Ansicht von dem Vorhandensein einer undulierenden Membran bei *Spirochaeta plicatilis* und bildet eine solche (1905) schematisch ab (Taf. 3 Fig. 5 nach Schaudinn). Ich vermute, daß Schaudinn zu dieser trypanosomenartigen Auffassung der Spirochäte dadurch kam, daß durch die Strömungen im Spirochätenplasma gelegentlich Verdickungen und Verdünnungen des Körpers hervorgerufen werden, wodurch „bei stillstehenden Individuen wellenförmige Bewegungen über die Spirale laufen“ (n. Schaudinn 1905 p. 5). Diese Beobachtung glaubte Schaudinn für das Vorhandensein einer undulierenden Membran ausdeuten zu dürfen und spricht (1906) die ganze breite Plasmaspirale als undulierende Membran an. Tatsächlich jedoch, und dies muß ich unter Hinweis auf meine Photogramme betonen, durchzieht der Achsenfaden schnurgerade das Innere des cylindrischen, einschichtig wabigen Spirochätenkörpers, welcher nirgends auch nur die leiseste Andeutung einer seitlichen Verbreiterung zur undulierenden Membran aufweist.

Der Achsenfaden durchzieht das ganze Tier; das äußere Ende läßt keine plasmatische Hülle mehr wahrnehmeu (Taf. 4 Fig. 1—10). An einer Seite endigt es gewöhnlich in ein kleines, stark färbbares Körnchen. Gelegentlich findet sich an beiden Enden des Achsenfadens (Taf. 4 Fig. 10) ein derartiges Körnchen (Photogr. 5, 10). Die Enden des Spirochätenkörpers sind lappig abgerundet (Taf. 4 Fig. 4, 5). Frisch geteilte Tiere verjüngen sich nach den Enden zu ganz erheblich und ihre Enden sind dann zugespitzt (Taf. 4 Fig. 10).

Das Plasma ist alveolär gebaut. Die äußere Wand des ein-

schichtig wabigen Plasmas ist ein wenig dicker als die Querwände. Das Plasma umhüllt, wie bereits oben ausgeführt, spiralig verlaufend, den geraden Achsenfaden. Dieser Achsenfaden ist elastisch; man kann dies im Leben beobachten, wie er bei allen Bewegungen der Spirochäte sich windet und biegt, wobei der gerade Verlauf stets erhalten bleibt. In den Plasmaspiralen liegen im Leben stark lichtbrechende, mit Kernfärbstoffen sich stark tingierende Körner (Taf. 4 Fig. 2, 3), und zwar in jeder Spirale ziemlich regelmäßig ein Korn (Photogr. 2—4). Teilungen dieser Körner sind gelegentlich zu beobachten (Photogr. 8).

Eine Reihe von Mikroreaktionen sollte über den Aufbau der *Spirochaeta* näheren Aufschluß geben:

Pepsin-Salzsäure[1]): greift den Körper kalt wenig, bei 40° in 48—72 Stunden stark an; die Körner werden darin aufgelöst.

Trypsin[2]): läßt bei kurzer Einwirkung zunächst Achsenfaden und Körner deutlicher hervortreten; bei 2—3 tägiger Einwirkung bei 40° löst sich das Plasma und die Körner, wobei der Achsenfaden widersteht. (Bei der Lösung zerbricht das Tier häufig in seine einzelnen Windungen.)

Saponin: In Saponinlösung leben die Spirochäten noch ca. ½ Stunde, oft länger. Bei längerer Einwirkung werden sie blaß, schattenhaft, ohne aufgelöst zu werden.

Taurocholsaures Natrium (1 : 10) macht die Organismen blaß. schattenhaft, ohne sie aufzulösen.

½ proz. Sodalösung: greift das Plasma nicht wesentlich an, löst die Körner.

Schwefelsäure: 1 proz. läßt die Spirochäten sich gerade, starr ausstrecken; abwechselnde Behandlung von 1 proz. Kalilauge und 1 proz. Schwefelsäure läßt die Spirochäten abwechselnd sich ausstrecken und wieder spiralig sich zusammenrollen; 1 proz. kalte Schwefelsäure löst die Körner in 12—24 Stunden; 3—5 proz. kalte Schwefelsäure löst die Körner in ca. ½ Stunde; 30 proz. Schwefelsäure den Spirochätenkörper.

Kalilauge: 1 proz. löst die Körner; 2—30 proz. zerstört den Spirochätenkörper, wobei der Achsenfaden länger widersteht. Vorbehandlung mit Alkohol abs.-Äther beschleunigt die Lösung.

---

[1]) 0,1 gr Pepsin, 150 ccm 0,3 proz. Salzsäure.

[2]) 0,2 gr Trypsin, 5 ccm 1 proz. Sodalösung 5 ccm aqua dest.

Der Achsenfaden färbt sich an konserviertem Material mit Kernfärbstoffen (Hämalaun nach P. Mayer, Delafield'schem Hämatoxylin, Eisenhämatoxylin nach Heidenhain usw.). Ich möchte hervorheben, daß er besonders scharf hervortritt, wenn man die Kernfarbstoffe ganz schwach alkalisch macht, z. B. dem Heidenhain'schen Hämotoxylin einige Tropfen Lithionkarbonatlösung zusetzt. Das Endkörnchen des Achsenfadens verhält sich sowohl bei Lösungsversuchen als auch bei den Färbungen der *Spirochaeta* ebenso wie der Achsenfaden und nicht wie die anderen Körner. Sehr gut ist der Achsenfaden zu studieren, wenn man dem lebenden Objekt einige Tropfen von mit Essigsäure schwach angesäuertem Biondi - Ehrlich'schem Dreifarbengemisch zusetzt. Die *Spirochaeta* quillt dann ein wenig und dabei färbt sich der Achsenfaden, ebenso wie sein Endkorn, leuchtend rot, die anderen Körner grünlich.

Das alveoläre Plasma, (Rindenschicht Bütschli's) färbt sich gut mit allen Plasmafarbstoffen (Eosin, Rubin usw.). Es gelingt weder optisch, noch, wie vorher gezeigt wurde, bei der Auflösung des Spirochätenkörpers Periplastfibrillen noch irgend welche membranöse Bildungen nachzuweisen. Ich muß also das Vorhandensein derartiger Organellen in Abrede stellen. Das Protoplasma ist nackt. Man könnte die äußere, ein wenig stärkere Wabenwand als Pellicula bezeichnen.

In den Spiralen des Plasmas liegen, wie oben erwähnt, ziemlich regelmäßig verteilt, runde, im Leben stark lichtbrechende Körner (Photogr. 2, 3, 4, 8, 9, 10), welche mit den roten Körnern Bütschli's (1896) identisch sind. Diese Körner färben sich gut mit Kernfärbstoffen (Hämalaun, Karmalaun usw.). Besonders stark werden sie im Gegensatz zum Achsenfaden tingiert, wenn man die Kernfarbstoffe mit Essigsäure schwach ansäuert. Die Lage der Körner ist ziemlich konstant (Taf. 4 Fig. 2, 3), und zwar liegt in der Höhe jeder Windung ein Korn. Größe der Körner und die Intensität ihrer Färbbarkeit schwankt bei verschiedenen Ernährungsbedingungen. Außerdem liegen unregelmäßig im Plasma verteilt kleinste Körner. Eine Anzahl Mikroreaktionen, welche über die Natur dieser Körner Aufschluß geben sollten, zeigten, daß ein Teil dieser kleinsten, unregelmäßig verteilten Körner und die größeren, regelmäßiger verteilten, verschiedene chemische Beschaffenheit haben. Beide Körnerarten werden von Kernfarbstoffen stark tingiert.

Nach A. Meyer (1904) ist es eine der auffälligsten Eigentümlichkeiten der Volutinkörner, daß sie sich mit Kernfarbstoffen lebhaft tingieren; daß sie diese Färbung aber bei Extraktion mit

Säuren viel fester behalten, als dies vom Kernchromatin geschieht. Auf dieser Eigenschaft beruht Meyer's Volutinreaktion I: Färbung mit Methylenblau (ein Teil einer konzentrierten wässerigen Lösung auf neun Teile Wasser) und Nachbehandlung mit 1 proz. Schwefelsäure. Dabei entfärbt sich die ganze Zelle mitsamt dem Kernchromatin und nur die Volutinkörner bleiben gefärbt. Nach dieser Reaktion, und nachdem die Reaktionen auf Kohlehydrate negativ ausgefallen waren, möchte ich einen Teil der kleinsten, unregelmäßig im Plasma verteilten Körper, welche sich nach Methylenblaufärbung in 1 proz. Schwefelsäure rasch entfärben, schlechthin als Chromatin bezeichnen; sie sind spärlich vorhanden. — Die größeren, reichlicher vorhandenen, regelmäßig verteilten Körner erweisen sich nach Meyer's Volutinreaktion I als Volutin. — In 5 proz. Schwefelsäure entfärbt sich das Volutin und löst sich auf.[1])

Auch eine Reihe anderer, an diesen Körnern (nach A. Meyer 1904) ausgeführten Reaktionen, um deren Volutinnatur zu prüfen, ergab positive Resultate.

Die Körner lösen sich, was bei Chromatin nie der Fall ist, in heißem Wasser von etwa 60°.[2])

Färbt man eine *Spirochaeta* intensiv mit Methylenblau (1 : 10) und setzt nach Absaugen der Farbe Jodkalium hinzu, so färbt sich das Plasma gelb, die Volutinkörner schwärzlich. Bei Zusatz von 5 proz. Natriumcarbonatlösung verblaßt das Volutin ganz langsam und löst sich auf.

---

[1]) Ich möchte bemerken, daß bei gleichzeitig mit den Spirochäten an Spirillen und Oscillatorien ausgeführten Reaktionen sich das Spirochätenvolutin in 5 proz. Schwefelsäure erheblich schneller löste als bei den gleichzeitig damit behandelten Spirillen und Oscillatorien. Dies weist darauf hin, daß das Spirochätenvolutin chemisch eine etwas andere Zusammensetzung haben muß als die Volutine jener Organismen.

[2]) Es ist diese Eigenschaft bei der Konservierung der Spirochäten zu beobachten; es dürfen nämlich deshalb die Konservierungsflüssigkeiten, in denen die Volutinkörner (rote Körner Bütschli's) erhalten bleiben sollen, nie heiß, sondern nur kalt angewandt werden. Im Anfang meiner Studien fehlten den warm mit Sublimat-Alkohol-Essigsäure konservierten Spirochäten oft die roten Körner. Erst nachdem ich festgestellt hatte, daß warmes Wasser die Körner löst, konnte ich diese Fehlerquelle vermeiden, indem ich mit kalten Flüssigkeiten, am besten mit Sublimatgemischen, Flemming'scher Lösung, Pikrinessigsäure oder Osmiumdämpfen fixierte. Zu dem Zweck wurden die Deckgläser 12—24 Stunden auf die Oberfläche des spirochätenhaltigen Schlammes gelegt und dann im ganzen konserviert. Ich fixierte feucht und behandelte auch feucht weiter, da die für Bacterien übliche Trockenmethode häufig verzerrte Bilder liefert und Kunstprodukte ergibt.

Eau de Javelle löst die Körner.

Mit Methylenblaulösung behandelte Körner werden in 5 proz. Natriumcarbonatlösung rasch entfärbt, bei sofortigem erneutem Zusatz von Methylenblau erfolgt wieder eine intensive Färbung der Körner.

Mit Jodjodkalium und Chlorzinkjod färben sich die Körner gelb, in 1 proz. Osmiumsäure bleiben sie ungefärbt.

In 5 proz. Schwefel- oder Salzsäure lösen sie sich, ebenso in Pepsin-Salzsäure.[1])

In 5 proz. Natriumcarbonat, in konzentrierter Sodalösung oder verdünnter Kalilauge lösen sich die Körner.

Nach diesen A. Meyer'schen Reaktionen unterscheiden sich die Volutinkörner scharf vom Chromatin. Meyer (1904) führt (p. 129) ausführlich aus, daß das Volutin keine freie Nucleinsäure enthalten könne uud macht es sehr wahrscheinlich, daß das Volutin eine Nucleinsäureverbindung sei. —

Über das optische Verhalten der Körner möchte ich berichten, daß die Spirochätenvolutinkörner stärker lichtbrechend sind als das sie umgebende Plasma, und schwächer lichtbrechend als der Achsenfaden. Die Körner sind — worauf schon Bütschli 1896 hinweist — hohl; sie sind bei hoher Einstellung dunkel, bei tiefer Einstellung hell. Bei guter Ernährung und lebhaftem Längenwachstum der Spirochäten konnte ich eine Vermehrung der Körner beobachten; ich sah sie niemals im Plasma sich neu bilden, sondern stets, daß sie sich durch Zweiteilung in Form einer einfachen Durchschnürung vermehrten (Photogr. 8).

Betrachtet man den Bau einer *Spirochaeta*, so wird man die große Übereinstimmung desselben mit dem Bau von Geißeln, speziell von Flagellatengeißeln wahrnehmen, wie diese aus den Arbeiten von Bütschli, Gurwitsch, Prowazek, Schuberg u. a. bekannt sind. Hier wie dort umzieht eine protoplasmatische Hülle in schraubigen Touren eine elastische axiale Faser. Dieser Achsenfaden dient als formgebendes und Stützelement des ihn umgebenden Plasmas. Das nackte Protoplasma ist wie bei der Amöbenbewegung mit ihren

[1]) Auch Bütschli (1890) konstatiert p. 29, daß bei Schizophyceen die roten Körner nach der Behandlung mit Pepsin-Salzsäure nicht mehr nachweisbar wären. Er zweifelt jedoch, daß die roten Körner in Pepsin-Salzsäure wirklich gelöst werden. Ich kann Bütschli's diesbezüglichen Angaben bestätigen; die roten Körner lösen sich tatsächlich in Pepsin-Salzsäure, erweisen sich aber nach meinen oben angeführten Reaktionen als Volutin und nicht als Chromatin.



verschiedenartigen Strömungen durch Änderung der Oberflächenspannung das aktive kontraktile Element bei der Bewegung. Der Achsenfaden funktioniert als elastischer Bestandteil. Durch die feste Verbindung von elastischem Faden und plasmatischer kontraktiler Hülle kommen die charakteristischen Bewegungen zustande.

Das stark färbbare Körnchen am Ende des Achsenfadens der *Spirochaeta* (Taf. 4 Fig. 5—10; Photogr. 5, 10) dürfte vielleicht dem Endstück der Geißel (SCHUBERG 1905) oder dem Basalstück der Flagellatengeißel (PROWAZEK 1910) entsprechen.

Wie kommt die starre und sehr stabile Spiralbildung zustande, welche den überaus flexilen Spirochäten ihr steifes und gedrechseltes Aussehen verleiht? Wird die Spiralbildung durch Skeletelemente ermöglicht, oder ist sie im Plasma präformiert? Anorganische Skeletelemente sind durch die Reaktionen ausgeschlossen; aber auch organische Skeletelemente wie Periplastfibrillen oder elastische Fasern sind nirgend nachweisbar; sie hätten bei den oben angeführten Lösungsversuchen (p. 10) hervortreten müssen, und das war nirgends der Fall. Außerdem möchte ich hier wenigstens kurz erwähnen, daß ich die von KOLTZOFF (1908) für Spermatozoen angewandten und beschriebenen physikalischen und chemischen Methoden bei *Spirochaeta plicatilis* angewandt habe, aber mit negativem Erfolg. Denn ich glaubte, daß sich vielleicht ein ähnliches organisches Skelet, wie ein solches nach KOLTZOFF für die Formbildung der Spermatozoen charakteristisch ist, auch würde bei *Spirochaeta* nachweisen lassen. Dies ist jedoch nicht der Fall. Das Spirochätenplasma löst sich bei den verschiedenen Lösungsversuchen (Trypsin usw.), und nur der als elastische Faser charakterisierte Achsenstab widersteht der Trypsineinwirkung.

Die Löslichkeit des Spirochätenkörpers (p. 10) weist auf seinen Aufbau aus Eiweißkörpern hin; die Lösung geht jedoch bei diesen sehr kleinen Körpern verhältnismäßig so auffallend langsam vor sich, daß man vielleicht geneigt sein könnte, hierfür Albuminoide oder Lipoideiweißverbindungen verantwortlich zu machen. Nucleoprotoide, d. h. chromatinartige Verbindungen dürften schon durch die Farbreaktionen (p. 11) ausgeschlossen sein. Doch scheint mir eine chemische Definition auf Grund derartiger Reaktionen verfrüht.

Es ist schwer angängig, sich den Achsenfaden als formbestimmendes Element in einer f l ü s s i g e n Hülle vorzustellen, denn mitunter gelingt es, besonders bei recht langen Spirochäten, welche für dieses Experiment am günstigsten sind, diese durch Druck zu zerstückeln; die Teilstücke zerfließen dabei nicht, wie dies der Fall sein müßte,

wenn das Plasma flüssig wäre; noch lösen sich unter dem Einfluß der verschiedenen Reagentien Tropfen ab, wie dies nach Schuberg (1905) bei der flüssigen Hülle von Geißeln und nach Koltzoff (1908) bei Spermatozoen geschieht. Ich möchte deshalb annehmen, daß das steife, gedrechselte Aussehen der Spirochäten ihren Grund darin hat, daß auch das spiralig gedrehte Plasma starr ist, sich im Gelzustande befindet. Die Plasmaströmung im Spirochätenplasma enthält keinen Widerspruch für diese Annahme; wissen wir doch, daß die Diffusionsgesetze sowohl für das Wandern von Lösungen in starren, gelförmigen Kolloiden, wie in flüssigen Körpern Gültigkeit haben. Daß z. B. Fermente, Toxine, Antitoxine usw. in erstarrten Leimsäulen wandern können. Ebenso könnte im starren, in Gelzustande sich befindendem Plasma, flüssiges in der Solphase befindliches Plasma wandern.

Das schattenartige Blaßwerden der Spirochäten in Saponin und anderen lipoidlösenden Mitteln weist darauf hin, daß die Spirochätenzelle im physikalischen Sinne durch eine Membran abgegrenzt sein dürfte. Diese ist lipoider Natur, braucht morphologisch nicht als Membran angeordnet zu sein und ist daher optisch nicht nachweisbar. — Ich möchte hier noch daran erinnern, daß bei verschiedenen Flagellaten, z. B. bei *Mastigamoeba* und *Cercobodo*, gleichfalls die äußere Schicht des Plasmas morphologisch nicht differenziert ist; deren relative Festigkeit wird durch Oberflächenspannung zu erklären gesucht, eine Ansicht, die mit der meinen in keinem prinzipiellen Gegensatze steht.

4. Fortpflanzung.

a) Zweiteilung.

Die am häufigsten zu beobachtende Vermehrungsweise von *Spirochaeta plicatilis* ist die Zweiteilung, welche in Form einer typischen Querteilung vor sich geht. Die sich teilende *Spirochaeta* schnürt sich in der Mitte ein, reißt durch, die beiden Teile weichen auseinander. An der Einschnürungsstelle ist vor der Teilung eine geringe Verdickung des Achsenfadens zu bemerken. Die körnchenartige Verdickung teilt sich, zieht sich centrodesmoseartig aus und reißt bei der Teilung (Taf. 4 Fig. 11 u. 12) der *Spirochaeta* durch. Der Körper der *Spirochaeta* verjüngt sich stark nach der Durchschnürungsstelle und zwar derartig, daß die Windungen an Höhe abnehmen, so, daß die *Spirochaeta* hier dünner erscheint. Frisch geteilte Spirochäten sind daher an der Teilungsstelle, dort wo die

centrodesmoseartige Verbindung zwischen den Endkörnern des Achsenfadens durchgerissen ist, scharf zugespitzt. Das Endkörnchen (Photogr. 5) entspricht dem oben (p. 9) geschilderten Endkorn des Achsenfadens [1]) (Taf. 4 Fig. 5—10). Das an der Teilungsstelle zugespitzte Ende der *Spirochaeta* rundet sich allmählich wieder ab und wird lappiger.

b. Vielfachteilung.

Eine zweite Form der Fortpflanzung der *Spirochaeta* ist die Vielfachteilung. In lebensfrischen, üppig gedeihenden Kulturen tritt sie häufig auf; man kann sie als das Charakteristikum für gut gedeihende Kulturen bezeichnen. Die Vielfachteilung läßt sich hauptsächlich an langen Exemplaren beobachten. Die einfache Zweiteilung dagegen konnte ich häufig an kürzeren Individuen verfolgen: an *Spirochaeta plicatilis*, welche eine Länge von 50—200 μ nicht überschritten. Die Vielfachteilung dagegen sah ich nie bei Exemplaren, welche kürzer wie 130 μ ca. waren, meist dagegen bei längeren Individuen. Über die Vielfachteilung kann ich cytologisch wenig aussagen. Lange, lebhaft bewegliche Spirochäten zerfallen, ohne vorherige morphologisch wahrnehmbare Veränderungen, in eine unregelmäßig große Anzahl von unter sich ungleich langen, nach den Enden sich verjüngenden, zugespitzten Teilstücken. Das kürzeste, so entstandene Teilstück einer *Spirochaeta plicatilis*, das ich zu beobachten Gelegenheit hatte, hatte vier Windungen und eine Länge von 11 μ. Die Teilungsstellen sind nicht präformiert. Bildung und Teilung eines Endkornes des Achsenfadens ist nicht wahrnehmbar. Diese Teilung, welche ebenso wie die Zweiteilung eine typische Querteilung ist, geht sehr schnell vor sich. In wenigen Sekunden hat sich der ganze Vorgang, erheblich schneller als bei der Zweiteilung, abgespielt. Die Spirochäta schnürt sich durch, zerfällt, und die Teilstücke kriechen nach verschiedenen Richtungen auseinander. Bei *Spirochaeta plicatilis* konnte ich nur einmal — bei *Spirochaeta stenostrepta* dagegen sehr häufig — beobachten, daß die Zellteilung nicht vollständig erfolgt, sondern die Tochterindividuen eine Zeitlang miteinander verbunden bleiben. Es reihen sich eine Anzahl so entstandener Organismen (5—15 wurden von mir beobachtet) hintereinander. Jedes einzelne von ihnen verdünnt sich nicht

[1]) Es liegt nahe, das Endkorn als Stützapparat für die Befestigung des Achsenfadens, ähnlich dem Blepharoplasten für die Trypanosomengeißel, aufzufassen; doch habe ich für die Annahme keine näheren Anhaltspunkte finden können.

unerheblich nach der Durchschnürungsstelle hin. Derartige Spirochätenkolonien machen durch die Verjüngung eines jeden Individuums nach seinen Enden zu einen gegliederten Eindruck. In einer solchen Kolonie zeigt sich die Individualität der noch zusammenhängend aneinander gereihten Spirochäten durch die selbständige Kontraktilität eines jeden Individuums. Dadurch weist der lange Faden nun nicht mehr, wie vor der Teilung, einheitliche Kontraktionen auf. — Diese Spirochätenverbände bleiben gewöhnlich nur wenige Minuten aneinander gereiht. Nur einmal konnte ich eine Koloniebildung (*Spirochaeta stenostrepta*) eine halbe Stunde lang beobachten. Die Spirochätenketten reißen bei den lebhaften Kontraktionen ihrer einzelnen Spirochätenglieder auseinander, und die isolierten Individuen kriechen nach verschiedenen Richtungen auseinander.

5. Systematik.

Für den Typus der Gattung *Spirochaeta*, für *Spirochaeta plicatilis* ist charakteristisch: der spiralige Bau, der Achsenfaden, die Volutinkörner (rote Körner Bütschli's), die Löslichkeit in Trypsin (Mangel einer morphologisch differenzierten Zellenmembran) und die Querteilung. Diese Charakteristika fand ich bei einer Reihe von Organismen, welche also zweifellos dem Genus *Spirochaeta* angehören.

Genus *Spirochaeta.*

1. Species: *Spirochaeta plicatilis.*

a) Subspecies: *Spirochaeta plicatilis plicatilis* Ehrbg. (Phot. 1—7).
b) Subspecies: *Spirochaeta plicatilis marina* (n. sp.) (Phot. 14).
c) Subspecies: *Spirochaeta plicatilis eurystrepta* (= weitgewickelte) n. sp. (Phot. 8—10).

2. Species: *Spirochaeta stenostrepta* (= enggewickelte) n. sp. (Phot. 12, 13).

1. *Spirochaeta plicatilis* Ehrenberg (Phot. 1—7) lebt in schwefelwasserstoffhaltigem Süßwasserschlamm fast anaerob.[1]) Dicke: schwankt zwischen $^1/_2$—$^3/_4$ μ, vereinzelte Exemplare bis 1 μ; Länge bis 500 μ, Durchschnittslänge 100—200 μ.

[1]) Schwefelwasserstoffschlamm ist stets so gut wie sauerstofffrei, bei Sauerstoffanwesenheit wird der Schwefelwasserstoff des Schlammes oxydiert: $H_2S + O$ und es resultiert $H_2O + S$.

In jeder Windung des Plasmas liegt ziemlich regelmäßig ein Volutinkorn. — Vermehrung durch Zwei- und Vielfachteilung.

2. *Spirochaeta plicatilis marina* n. sp. (Phot. 14) lebt im schwefelwasserstoffhaltigen Meerwasserschlamm (Nordsee, Mittelmeer) fast anaerob, wird ca. bis $^1/_2$ μ breit, bis 200 μ lang, und hat weniger, kleinere und unregelmäßiger angeordnete Volutinkörner als *plicatilis*; Vermehrung durch Zwei- und Vielfachteilung.

Der Ort des Vorkommens ist natürlich nicht als systematisches Merkmal zu verwenden. Die morphologischen Unterschiede zwischen *plicatilis* und *marina* sind gering und es muß dem Experiment vorbehalten bleiben zu entscheiden, ob das äußere Medium fortgestaltend wirkt, oder ob echte Speciesunterschiede zwischen der Süß- und Meerwasserform vorliegen. Meine Experimente, marine Spirochäten an Süßwasser zu gewöhnen, um diese Frage entscheiden zu können, schlugen leider fehl. Andererseits muß ich erwähnen, daß die Ausbildung der Volutinkörner auch bei *plicatilis plicatilis* unter den jeweiligen Ernährungsbedingungen schwankt, und die Volutinkörner verschieden groß und reichlich ausgebildet sein können. In üppig gedeihenden Kulturen, in denen sich die Spirochäten lebhaft durch Teilung vermehren, sind die Volutinkörner größer und reichlicher als in solchen, in denen vereinzelte und meist sehr lange Spirochäten angetroffen werden. Da aber, wie gesagt, die Ausbildung der Volutinkörner bei der marinen Form stets eine geringere ist als bei der Süßwasserform, ferner die marine Spirochäte etwas dünner ist und nicht so lang wird, wie die Süßwasserform, halte ich es für berechtigt, nach diesen morphologischen Unterschieden eine Subspecies aufzustellen.

3. *Spirochaeta plicatilis eurystrepta* n. sp. (Phot. 8—10) fand ich stets vergesellschaftet mit *plicatilis plicatilis* im Süßwasser (Phot. 11); sie wird ca. $^1/_2$ μ dick, bis 300 μ lang, ist in flacheren, weniger steifen Spiralen gewickelt und erheblich schwächer lichtbrechend als *plicatilis*. Von Vermehrung hatte ich nur Gelegenheit die Vielfachteilung vereinzelt zu beobachten. Ich halte es nicht für ausgeschlossen, da ich sie stets vergesellschaftet mit *plicatilis* fand, daß es sich um eine Entwicklungsform von *plicatilis* und nicht um eine andere Species handelt. Da ich aber für diese Hypothese keine Belege finden konnte, zögere ich nicht, die der *plicatilis* offenbar sehr nahe verwandte, aber von ihr morphologisch doch charakteristisch unterschiedene Form als eine Subspecies von *plicatilis* zu bezeichnen.

4. *Spirochaeta stenostrepta* n. sp. (Phot. 12, 13), schwefelwasserhaltiger Süßwasserschlamm fast anaerob. Dicke höchstens ca. $^1/_4$ μ;

in sehr engen und steilen Spiralen gewickelt. Das Messen so feiner Objekte ist eine heikle Sache, und dürfte schwerlich ganz präzise ausfallen. Länge bis 200 μ. So lange Exemplare sind selten, die Durchschnittslänge beträgt 20—60 μ. — Vielfachteilung langer Exemplare häufig; kürzestes an beiden Enden zugespitztes Teilstück hatte elf Windungen bei 13 μ Länge. Zweiteilung scheint bei *stenostrepta* selten zu sein, ich konnte sie nur zweimal beobachten.

Der Achsenstab und die Volutinkörner sind vorhanden, aber bei dieser sehr schmalen Form auf Präparaten sehr schwer färberisch zu differenzieren. Der Achsenfaden ist mitunter im Leben zu erkennen. Ich kann es als vorteilhaft empfehlen, *Spirochaeta stenostrepta* vor der Färbung mit Trypsin oder $^1/_2$ proz. Sodalösung kurz vorzubehandeln. Achsenstab und Körner lassen sich dann erheblich schärfer färben und besser differenzieren.

SCHAUDINN sprach (1905) die Möglichkeit aus, daß „viel dünnere und feinere Fäden", welche er stets mit *Spirochaeta plicatilis* vergesellschaftet fand, die männlichen Formen der *Spirochaeta plicatilis* sein können. Diese dünnen feinen Organismen sind, wie sein Photogramm 4 (1905) zeigt, identisch mit *Spirochaeta stenostrepta.* Ich kann SCHAUDINN's Hypothese nicht bestätigen. Zwar kommt *stenostrepta* häufig vergesellschaftet mit *plicatilis* vor, doch konnte ich auch *stenostrepta* ohne *plicatilis* und *plicatilis* ohne *stenostrepta* züchten. Marin kommt *stenostrepta* überhaupt nicht vor. Irgendwelche als Geschlechtsvorgänge zu deutende Beobachtungen sind weder von SCHAUDINN noch von mir gemacht worden. Ich habe also keinen Grund, *stenostrepta* als die männliche Form von *plicatilis* zu bezeichnen und zögere nicht, *plicatilis* und *stenostrepta* als zwei verschiedene Arten zu betrachten, welche bei gleichartigem Bau morphologisch durch ihre sehr ungleichen Größenverhältnisse scharf voneinander unterschieden sind.[1])

---

[1]) Der von WARMING 1875 als *Spirochaeta gigantea* bezeichnete Organismus läßt auf den von WARMING gegebenen Abbildungen nichts von den für *Spirochaeta* charakteristischen Details erkennen: es ist weder ein Achsenfaden noch die charakteristischen Volutinkörner eingezeichnet, und auch im Text nichts davon bemerkt. Bei der 3 μ breiten, also verhältnismäßig sehr dicken *Spirochaeta* hätte zum mindesten der Achsenfaden im Leben leicht gesichtet werden müssen. Auf WARMING's Zeichnungen sieht die fragliche *Spirochaeta* auch so steif aus, daß ich es für leicht möglich halte, es handele sich um eine Spirille und nicht um eine *Spirochaeta.* Es müssen weitere cytologische Details von *Spirochaeta gigantea,* welche seit WARMING 1875 nicht wieder beobachtet wurde, abgewartet werden, um deren Spirochätennatur sicher zu stellen.

II. Verwandtschaftsbeziehungen der Spirochäten.

SCHAUDINN fand bekanntlich als Entwicklungsstadien des Trypanosomen *Leukozytozoon ziemanni* indifferente Formen, welche sich fortgesetzt durch Längsteilung vermehren und während einer Entwicklungsperiode Spirochätengestalt besitzen. Diese Spirochätenstadien weisen alle die für Trypanosomen charakteristischen Eigentümlichkeiten auf: Kern, Blepharoplast, undulierende Membran, und als deren Fortsetzung die freie Geißel.

Im Anschluß an diese Entdeckung weist SCHAUDINN auf die Verwandtschaft der Spirochäten, freilebenden wie pathogenen, mit den Flagellaten, speziell den Trypanosomen, hin. — Betreffs derartiger Verwandtschaftsbeziehungen zu den Cristispiren verweise ich auf das p. 32 Gesagte.

Systematisch von Wichtigkeit für eine Verwandtschaft der Spirochäten mit den Trypanosomen war die Möglichkeit des Nachweises einer undulierenden Membran. Nach SCHAUDINN (1906) ist eine solche auch bei *Spirochaeta plicatilis* vorhanden. BÜTSCHLI nimmt an, daß *Spirochaeta plicatilis* von einem stabförmigen Achsenfaden durchzogen wird; dieser wird nicht allseitig gleichmäßig von der einschichtig wabigen Rindenschicht umhüllt; letzterer sind die roten Körner eingelagert. SCHAUDINN erwidert darauf (1906): „BÜTSCHLI deutet den ganzen Zentralkörper als Kern und den spiraligen Periplasten als Protoplasma“ (gemeint ist von SCHAUDINN die schraubige Rindenschicht). „Ich betone den Dualismus der Kernverhältnisse, deute den Periplasten nur als Teil des Protoplasmas und spreche die Spirale als undulierende Membran an.“

Ich kann nach meinen Beobachtungen, welche oben ausgeführt wurden, BÜTSCHLI's Auffassung bestätigen. *Spirochaeta plicatilis* ist cylindrisch, im Durchschnitt kreisrund und hat nirgend eine seitliche Verbreiterung zur undulierenden Membran.

Bei der aus dem Nachlaß SCHAUDINN's von HARTMANN und PROWAZEK herausgegebenen Arbeit (1907) ist Tafel 2 Abbild. 4 ein Photogramm beigefügt. Zu diesem bemerken die Herausgeber, daß der undulierende Saum leider nicht gut herausgekommen wäre. Von einer mit einem Pfeil bezeichneten Stelle wird bemerkt, daß hier an dieser einen Stelle die undulierende Membran erkennbar wäre. Der angebliche Randfaden der undulierenden Membran an dieser einen Stelle ist aber, wie ich mit Sicherheit zu behaupten wage, ein Schmutzsaum, irgendeine zufällige Verunreinigung, und

eine undulierende Membran ist dort ebensowenig wie auf den anderen Photogrammen jener Arbeit bei *Spirochaeta plicatilis* vorhanden; ich mußte dies vorausschicken, denn ein von Schaudinn (1905) abgebildetes Schema von *Spirochaeta plicatilis*, welches seiner Auffassung gemäß eine undulierende Membran bei *Spirochaeta plicatilis* erkennen läßt, wurde für die Erklärung der sehr kleinen und schwer zu untersuchenden pathogenen Spirochätenformen immer wieder herangezogen und deren Bauart auf dieses mit den tatsächlichen Verhältnissen nicht übereinstimmende Schema zurückgeführt. Ich habe das Schema, weil es in einer schwer zugänglichen Arbeit (1905) publiziert wurde, reproduziert (Taf. 3 Fig. 5). Ich verweise für meine Auffassung der *Spirochaeta plicatilis* nochmals auf meine Photogramme 1—7, speziell auf Photogramm 1 und das danach angefertigte Schema (Taf. 4 Fig. 3), welches den geraden Verlauf des Achsenfadens zeigt. — Auf Schaudinn's Photogrammen ist der Achsenfaden nicht erkennbar.

Auch gegen die Auffassung bei den offenbar sehr ursprünglichen Spirochäten möchte ich mich wenden, welche deren Kernelemente als im Körper verteilte Chromidien anspricht (Hartmann 1907). Ebenso gegen jene, welche angibt, es sei ein ausgezogener Kernstab vorhanden, welcher dem lokomotorischen Kernapparat der Trypanosomen entsprechen dürfte, während die vegetativen Kernmassen in Form körnchenartiger Chromidien diesen Faden umgeben (Schaudinn 1905, Schaudinn 1907 Nachlaß).

Als Chromidien werden Elemente aus Chromatin bezeichnet, welche wohl größtenteils aus dem Kern stammen: dieser degeneriert, wie R. Hertwig gezeigt hat, häufig bei der Chromidienbildung und stößt die Chromidien aus dem Kerm ins Plasma aus (Zuelzer 1904). Wie ich p. 11 nachgewiesen habe, bestehen die mit Kernfärbstoffen sich stark färbenden, kernartigen Elemente der *Spirochaeta plicatilis* aus dem durch Meyer's Mikroreaktionen gut präzisierten und vom Chromatin scharf zu unterscheidenden Volutin. Dasselbe ist nach Meyer's Angaben eine Nucleinsäureverbindung und als solche durch ihren größeren Phosphorreichtum stärker färbbar als die Nucleoproteide. Es ist kein seltener Fall in der Geschichte der Chromidienforschung, daß Volutin und Chromidien (Chromatin), zwei morphologisch ähnliche aber chemisch verschiedene Körper, miteinander verwechselt wurden.

Volutinkörner haben eine allgemeine Verbreitung bei Bakterien, Pilzen und Algen. Auch im Plasma der Protozoen: bei Rhizopoden, Flagellaten und Sporozoen sind sie häufig; sie entstammen meist

nicht dem Kern, sondern werden (REICHENOW 1909) häufig im Plasma gebildet. — Die Rolle, die das Volutin im Leben der Zelle spielt, macht es nach den Angaben A. MEYER's (1904), REICHENOW's (1909, 1910) ebenso, wie vielleicht meine begonnenen Experimente mit Oscillatorien (p. 41) und deren sehr variablen Volutinelementen sehr wahrscheinlich, daß das Volutin einen Reservestoff darstellt, und zwar, wie die Beobachtungen, REICHENOW's (1910) an *Haemogregarina stepanowi* an den Schizonten der Geschlechtsgeneration zeigen, einen Reservestoff für die Kernsubstanz.

Das Volutin hat da, wo es bei kernhaltigen Protozoen auftritt, Beziehungen zum jeweiligen Kern. Bei *Haematococcus pluvialis* findet z. B. kurz vor der Teilung eine Vermehrung des Kernchromatins statt, welche mit einer Verminderung der im Plasma liegenden Volutinelemente Hand in Hand geht. Haben wir demnach keinen Anlaß, die Volutinkörner der *Spirochaeta* als Chromidien, d. h. als aus einem Kern stammend zu bezeichnen, so deutet die Volutinnatur der betreffenden Körner wohl auf Kernbeziehungen hin. Da wir bei höheren Protozoen das Volutin als Reservestoff des Zellkerns kennen, so könnte man vielleicht in den Volutinelementen auch bei *Spirochaeta plicatilis* eine Vorstufe eines noch morphologisch nicht individualisierten Kernes erblicken, ganz ähnlich wie BÜTSCHLI dies von dem schon höher differenzierten, volutinreichen Zentralkörper der Cyanophyceen annimmt. Auch physiologisch mag den Volutinkörnern der Spirochäten wohl eine kernartige Bedeutung zukommen.[1])

Es erscheint mir ferner in keiner Weise begründet, den fadenförmigen, elastischen Achsenfaden der *Spirochaeta* dem lokomotorischen Kernapparat der Trypanosomen, dem Blepharoplasten oder centrosomalen Gebilden zu homologisieren. Der Achsenfaden stellt einen strukturlosen, elastischen Faden dar, ein recht widerstandsfähiges Zellprodukt, wie wir ähnliche elastische Achsenstäbe als formgebende Skeletelemente verschiedener Protomonadinen z. B. bei *Trichomastix* kennen. Die Entstehung des Achsenfadens steht bei dieser Organismengruppe genetisch wohl mit dem Zellkern in Verbindung, der Achsenfaden selbst stellt aber niemals einen Kern dar. Ich halte demnach eine Homologisierung von Spirochätenachsenfaden

[1]) Bei dieser sehr primitiven Kernstruktur sind die Bestandteile überall und reichlich in der Zelle verteilt. So ist es zu erklären, daß es nebensächlich sein kann, wenn bei den ungleich großen Zellquerteilungen von *Spirochaeta plicatilis* die Tochterindividuen nicht immer die gleiche Menge Volutinkörner erhalten.



und Trypanosomenzellkern, wie überhaupt die Schilderung, als stelle der elastische, fibrillenartige Zentralfaden der *Spirochaeta* einen „zu einem Kernstab ausgezogenen Kern“ dar (HARTMANN), für unbegründet.

1. Bakterien.

EHRENBERG stellte 1838 die Gattung *Spirochaeta* für die von ihm entdeckte *Spirochaeta plicatilis* auf. Er fügte diese in seine, die ganze heutige Klasse der Bakterien umfassende Familie der Vibrioniden ein. In der Diagnose für *Spirochaeta* hebt EHRENBERG deren Flexibilität hervor, hält sie demnach für flexile Bakterien. Bis in die neueste Zeit wurden die Spirochäten (nach MIGULA, ENGLER und PRANDTL) der Familie der Spirillaceen zugerechnet und mit den Vibrionen und Spirillen als Schraubenbakterien bezeichnet. Die Spirillen sind korkenzieherartig gewunden, bewegen sich mit Hilfe von Geißeln im Wasser schwimmend, schraubenartig vor und rückwärts. Im Gegensatz hierzu führen die Spirochäten, wie p. 6—8 gezeigt wurde, eigene, dem ganzen Spirochätenleib zukommende Bewegungen aus, welche durch Strömungen in ihrem nackten Plasmakörper verursacht werden. Der charakteristische Unterschied, welcher in den Bewegungen von Spirillen und Spirochäten zum Ausdruck kommt, hat seinen Grund in dem Vorhandensein von Geißeln und einer festen starren Zellmembran, welche den Bakterien zukommt und allen Spirochäten fehlt.

Was den feineren Bau der Bakterien betrifft, so besteht (BÜTSCHLI 1890, 1896, 1902) der Körper der Hauptmasse nach aus dem kernartigen Zentralkörper und der diesen umgebenden plasmatischen Hülle = Rindenschicht. — Bei *Spirillum volutans* (BÜTSCHLI 1902) ist die alveoläre schraubige Rindenschicht überaus fein und dünn und ich konnte sie nur nach der von BÜTSCHLI (1902) angegebenen Trockenmethode erkennen. Die hellen plasmatischen Enden an den Polen sind auch an feucht fixierten Spirillen und sehr viel leichter nachweisbar. Der die größte Masse des Spirillenkörpers einnehmende Zentralkörper, charakterisiert durch seine starke Färbbarkeit mit Kernfärbstoffen, enthält in einer plastinartigen Grundsubstanz ein große Menge von Chromatin- und Volutinkörnern.

BÜTSCHLI (1890, 1896, 1902) spricht dem elastischen Achsenfaden der *Spirochaeta plicatilis* mitsamt den diesen umgebenden „roten Körnern“ Zentralkörpernatur zu. BÜTSCHLI weist jedoch bei Schizophyceen und Bakterien ausführlich als wichtiges Charakteristikum der Kernnatur des Zentralkörpers nach, daß die „roten Körner“, die

Volutinelemente, stets im Zentralkörper und nicht in der Rindenschicht liegen. Bei *Spirochaeta plicatilis* dagegen ist eine derartige Differenzierung der Lage nicht vorhanden. Wie p. 10 gezeigt wurde, umgeben die Volutinkörner den fadenartigen Achsenstab (Phot. 2—4), liegen in der alveolären Plasmaspirale, also in der Rindenschicht. Auch liegen sie direkt im Plasma und nicht, wie bei Schizophyceen und Bakterien, in einer kernartig organisierten plastinartigen Grundsubstanz. Diese Tatsachen dürften gegen eine Homologie des Achsenfadens mit dem Zentralkörper sprechen.

Die morphologischen Unterschiede haben wohl in der Physiologie der Spirochäten und der Spirillen ihre Erklärung. Der Achsenstab der *Spirochaeta* ist eine einheitliche feste Fibrille, ein Plasmaprodukt; ein elastischer Faden, wie oben gezeigt wurde, welcher als formgebendes Element im nackten, membranlosen Plasmakörper der Spirochäten anzusprechen ist; der Antagonist bei der Bewegung des kontraktilen Plasmas, wie derartige, diesen ähnliche Achsenstäbe von vielen Flagellaten, z. B. *Lamblia*, *Trichomastix* usw. bekannt sind. Die Grundsubstanz des Bakterienzentralkörpers ist dagegen alveolär gebaut und dürfte plastinartiger Natur sein. Bei den Spirillen, deren Bewegungen mit Hilfe von Geißeln hervorgebracht werden, umgibt eine starke, feste, doppelt konturierte Zellmembran, wie eine solche allen Bakterien mit ihren zahllos variablen Formen zukommt, den ganzen Plasmaleib. Sie ist das feste, formgebende Element der Bakterienzelle.

Es können nun zwar die stark färbbaren Elemente gewisser Bakterien häufig ganz ähnlich wie der Achsenfaden der *Spirochaeta*, zentral in der Längsachse fadenartig angeordnet sein. Ich hatte Gelegenheit, im Meerwasser bei Neapel eine 22—58 μ lange, schraubenartig gedrehte $1^3/_4$ μ breite Spirillacee häufiger zu beobachten. Die lebhaften Bewegungen bestehen unter schraubenartigen Drehungen in geradem Vor- und Rückwärtsgleiten. Die Membran ist deutlich doppelt konturiert, das Plasma sehr regelmäßig alveolär gebaut. Die sich stark färbenden chromatischen Bestandteile sind gelegentlich in unregelmäßigen Klümpchen angeordnet. — Typisch und immer wiederkehrende Bildungen der sich lebhaft vermehrenden Bakterien sind ziemlich kompakte Ansammlungen von Volutinelementen an einem oder beiden Polen des Organismus. Von diesem aus durchzieht ein fadenartiger Strang den Körper zentral in der Längsachse (Phot. 19a u. b). Dieser besteht aus einer Reihe dichtest nebeneinander gereihter Körnchen. Der zentrale schnurgerade verlaufende Körnchenstrang variiert in seinem Ausbildungs-

grade; aber auch bei starker Anreicherung kommt es niemals zur Ausbildung eines einheitlichen Fadens, sondern stets bleiben die mehr oder weniger stark ausgebildeten Körnchen dicht nebeneinander gedrängt liegend isoliert erhalten. So kommt es nie zu einer dem Achsenstab der Spirochäten gleichartigen Bildung (Taf. 4 Fig. 14, 15).

Ähnliche Verhältnisse finden sich auch bei *Bacillus bütschlii* (Schaudinn) auf bestimmten Entwicklungsstadien, wo die Körner zentral liegen und fadenartig angeordnet sind. Sie sind häufig sehr reichlich vorhanden und liegen dicht gedrängt, bleiben aber stets als isolierte Körnchen erhalten und es kommt niemals zur Ausbildung einer einheitlichen achsenfadenartigen Fibrille.

Die Ausbildung einer festen Zellmembran, welche allen Bakterien zukommt und die der Bewegungsorganellen der Spirillen, der Geißeln, trennt im Verein mit der verschiedenartigen Organisation ihres Weichkörpers die starren Spirillen von den nackten, geißellosen, flexilen Spirochäten. — Die bei den Spirillen stets nachweisbare äußere feste starre Zellmembran spreche ich als stützendes, formgebendes Element an. Bei den Spirochäten dagegen ist eine ganz anders geartete Bildung, der innen gelegene Achsenfaden, das einzig vorhandene Skeletelement.

Der Bau der starren Spirillen und der flexilen *Spirochaeta plicatilis* ist demnach, worauf schon Schaudinn (1905) hinweist, eine so verschiedenartige, daß trotz der den beiden Organismengruppen zukommenden Spiralbildung eine Verwandtschaft von Spirochäten und Spirillen wohl selbst von Anhängern der Bakteriennatur der Spirochäten wird in Abrede gestellt werden müssen. — Auch im sehr variabeln Zentralkörper der von einer festen Zellmembran umgebenen Beggiatoafäden zeigen die mit Kernfärbstoffen sich stark färbenden Körner ebenfalls gelegentlich zentral eine fadenartige Anordnung (Taf. 4 Fig. 16). Aber auch hier bleiben die einzelnen Körnchen des Zentralkörpers stets isoliert erhalten und es kommt niemals zur Ausbildung eines einheitlichen Fadens.

Die Zellmembran dient offenbar — wo sie vorhanden — als formgebendes und Stützelement. Der elastische, aber feste und widerstandsfähige Achsenfaden der Spirochäten darf ebenfalls als formgebendes und Stützelement angesehen werden. Beim gleichen Organismus kommen Zellmembran und Achsenfaden niemals zusammen, wie ich p. 32 und 43 noch näher ausführen werde, zur Ausbildung.

2. Cristipiren.

Während meines Aufenthaltes an der zoologischen Station Neapel im Frühjahr 1910 wollte ich die Verwandtschaft der als Spirochäten bezeichneten Muschelparasiten zu den echten Spirochäten prüfen. Zu dem Zweck untersuchte ich die Parasiten aus Magen, Darm und Kristallstiel folgender Muscheln, welche zu dieser Zeit infiziert waren: *Tapes* (Sp.) (Phot. 17), *Pinna nobilis* L., *Pecten jacobaeus* Lam. (Phot. 16), *Ostrea edulis* L. (Phot. 15). *Venus verrucosa* L. (Phot. 18) war zu dieser Zeit bis zu 95 Proz. infiziert. Ich führe letztere Tatsache hier an, um zu zeigen, wie launisch derartiges Material ist: Schellack (1908) und Gross (1910) fanden bei ihren Untersuchungen *Venus verrucosa* überhaupt nicht infiziert.

Um einwandfreie Präparate der Muschelparasiten zu erhalten, ist es unbedingt nötig, die zarten Organismen feucht zu fixieren und naß weiter zu behandeln. Ich erhielt die besten Resultate bei Fixierung mit Sublimatgemischen, Pikrinessigsäure nach Boveri und starker Flemming'scher Flüssigkeit. Ich betone dies, weil Trockenpräparate nach der in der Bakteriologie üblichen Methode Präparationsplasmolyse verursachen, Kunstprodukte, welche Perrin, Fantham, Keysselitz und Gonder getäuscht haben mögen; denn deren eigentümliche Bilder des Körperinhaltes dieser Organismen, die chromatischen Spiralbänder usw. sind beim Antrocknen der Parasiten durch Schrumpfungserscheinungen zu erklären und jederzeit kann man sich dieselben Bilder verschaffen. Sie entsprechen nicht den tatsächlichen Verhältnissen. — Die besten Färbungen erzielte ich mit Heidenhain'schem Hämatoxylin oder Hämalaun und Karmalaun nach P. Meyer, Nachfärbung mit Eosin oder Rubin R. Vorzüglich fand ich es ferner, dem lebenden Parasiten einige Tropfen von schwach mit Essigsäure angesäuerten Ehrlich-Biondi'schem Dreifarbengemisch zuzusetzen. Diese Präparate halten sich aber nicht. —

Dem Entdecker des Muschelspirochäten Certes erschienen diese den Trypanosomen so ähnlich, daß er sie diesem Genus einfügte. Laveran und Mesnil (1901) dagegen bezeichneten bereits die Muschelspirochäten als in die Nähe der Spirillen zu stellende Organismen. Perrin (1905, 1906) wollte den von Certes entdeckten Organismus den Namen *Trypanosoma balbiani* belassen und erst Schaudinn (1905) reihte sie in das Genus *Spirochaeta* ein, welche Stellung ihnen von den späteren Autoren belassen wurde. Während ich meine nachstehenden Untersuchungen ausführte, erschien die

wichtige Arbeit von Gross (1910), welcher für die Muschelspirochäten ein neues Genus aufstellt. Er hält dieselben für Bakterien und benennt das Genus *Cristispira.* Gross glaubt, auch die pathogenen Formen auf einen ähnlichen Bauplan zurückführen zu können, und vereinigt deshalb die Cristipiren mit den pathogenen Spirochäten zur Bakterienfamilie der Spironemaceen.

Der Parasit aus *Venus verrucosa* (Phot. 18) erreicht eine Länge von 68 μ; Durchschnittslänge 40—50 μ, die kleinsten Exemplare waren 21 μ lang. Die Dicke beträgt 2—$2^1/_4$ μ. Der Körper ist in echten Spiralen gewunden; die Zahl der Windungen bei diesen Organismen im Durchschnitt 4. Die Körperkonturen der Muschelparasiten sind parallel, die Enden zugespitzt. Dem im Querschnitt fast kreisrunden Körper sitzt einseitig ein sehr zartes Organell auf. Dasselbe ist etwa 1 μ hoch und unmeßbar fein; es verstreicht nach den Enden des Körpers und erreicht dessen Spitzen nicht. Im Leben ist es gut zu beobachten und erscheint hier als sehr zarte feine Linie. Offenbar kehrt es dem Beobachter im Leben nicht die Fläche, sondern nur die sehr dünne Kante zu, und dies mag der Grund sein, warum das zarte Organell im Leben häufig übersehen wurde. „Une crîte forte délicate“ bezeichnet es Certes, der Entdecker dieser Organismen. Crista nennt es Gross und bezeichnet nach dieser Crista, welche ein für diese Organismen sehr charakteristisches Organell darstellt, überaus treffend diesen Organismus *Cristispira.*

Der Cristipirenkörper ist, wie bereits Laveran und Mesnil (1901), Swellengrebel (1909), Schellack (1909) und Gross (1910) im Gegensatz zu früheren Beobachtern für eine Reihe von Cristispiren angegeben haben, aus regelmäßig aneinander gereihten, cylindrischen Kammern zusammengesetzt, welche man bereits im Leben gut wahrnehmen kann. Bei *Cristipira veneris*[1]) konnte ich bei den verschiedenen Exemplaren 30—79 Kammern beobachten. Der Kammerinhalt ist erheblich schwächer lichtbrechend als die Kammerwände. Diese färben sich stark mit Kernfarbstoffen (Heidenhain'schem Hämatoxylin, Hämalaun, Karmalaun); der Kammerinhalt ist erheblich schwächer färbbar. In den Wänden sind gelegentlich feinste, sich mit Kernfarbstoffen färbende Granulationen wahrzunehmen. Den ganzen Körper umgibt eine feine färberisch sehr schwer differenzier-

[1]) Nach der Niederschrift dieser Arbeit erschien die Arbeit von Dobell über „*Cristispira veneris*“, eine *Cristispira,* welche in *Venus* (*Meretrix*) *casta* Chem. lebt. Es scheint, daß die Parasiten aus *Venus verrucosa* und *casta* in den wesentlichsten Punkten so weit übereinstimmen, daß sie wohl mit Recht als die gleiche Species „*Cristispira veneris*“ bezeichnet werden dürfen.

bare mit HEIDENHAIN'scher Färbung sich gewöhnlich schwarz färbende, gleichmäßig starke, doppelt konturierte Membran. Auf Präparaten färbt sich die dem Körper aufsitzende Crista mit Eisenhämatoxylin zunächst sehr stark und man kann dann gut ihren einseitigen Verlauf und das Verstreichen nach den Körperenden, welche sie nicht erreicht, studieren. Beim Differenzieren entfärbt sie sich vollständig und läßt sich dann mit Plasmafarbstoffen nachfärben. Bei seitlicher Betrachtung von der Fläche gesehen erscheint sie als schmales Band. Von oben sieht man die Kante der Crista und sie wird dann als schmale Linie sichtbar.

Ich wollte versuchen, mir durch eine Reihe von Mikroreaktionen einen weiteren Aufschluß über den Bau dieser Organismen zu verschaffen, welche so häufig der morphologischen Untersuchung dienten und über deren Aufbau trotzdem die Meinungen stark auseinander weichen.

Die Reaktionen wurden ausgeführt bei *Cristispira tapetos*, *pinnae*, *balbiani*, *veneris*, *pectinis*. Die Resultate waren die gleichen, nur die Zeitdauer der Reaktionen schwankte. *Cristispira balbiani* war die widerstandsfähigste, *Cristispira pectinis* die zarteste der von mir untersuchten Formen.

Saponin: läßt bei kürzerer Einwirkung (1—2 Stunden) am äußeren Rande der Crista eine überaus zarte Randfibrille erkennen. Bei längerer Einwirkung wird die Crista stark angegriffen und undeutlich. Der Cristispirenkörper wird kaum angegriffen.

Taurocholsaures Natrium: bei der Einwirkung von einigen Minuten wird am äußeren Rande der Crista eine sehr zarte, etwas stärker lichtbrechende Fibrille deutlich. Nach etwa 10—15 Minuten ist die Crista zerstört. Der Körper quillt ziemlich stark auf, wird aber sonst nicht wesentlich angegriffen. Längere Einwirkung maceriert ziemlich stark, wobei sich ganz unregelmäßige, fädige Stränge loslösen.

Pepsin-Salzsäure zerstört schnell die Crista; bei deren Auflösung bezeichnet eine sehr zarte Körnchenreihe an der äußeren Kontur der Crista den Verlauf der Randfibrille. Der Körper wird nicht wesentlich angegriffen.

Trypsin: die Crista wird schnell und vollständig gelöst. Im Anfang der Auflösung bezeichnet eine zarte Körnchenreihe an der äußeren Kontur der Crista den Verlauf der Randfibrille. Im Anfang der Trypsineinwirkung wird die Kammerung im Körperinnern deutlicher. Bei längerer Einwirkung (24—48 Stunden) werden die Kammerwände und schließlich der ganze Körperinhalt aufgelöst.

Der Trypsineinwirkung widersteht eine dünne aber feste, doppelt konturierte, einheitliche Zellmembran, welche den spiraligen Körper umgibt. Diese Membran bleibt auch bei 2—3 tägiger Trysineinwirkung bei 40° unverändert.

Kalilauge: 1 proz. löst sehr schnell die Crista; bei längerer Einwirkung (1—2 Tage) auch völlig den Körperinhalt der *Cristispira.* Die doppelt konturierte Körpermembran ist darin ebenso wie in 10 proz. Kalilauge unlöslich. Es ist notwendig, die in Kalilauge gequollene und durchsichtig gewordene Membran hinterher in angesäuerten Medien, z. B. Essigwasser zu untersuchen, weil darin die Konturen wieder schärfer werden und sonst eine Lösung vorgetäuscht werden könnte.

Die Membran ist überaus widerstandsfähig, von Schwefelsäure wird sie kaum angegriffen. Von Eau de Javelle und SCHWEIZER's Reagens (Kupferoxydammoniak) wird sie sehr stark angegriffen, besonders bei vorheriger Kalilaugebehandlung. Von 30 proz. Kalilauge wird sie in der Hitze aufgelöst.

Mit Jod und Jodjodkalium färbt sich die Membran gelb; von Chlorzinkjod wird sie ebenfalls gelb gefärbt und bleibt gelb auch bei nachheriger Schwefelsäurebehandlung.

Nach diesen Reaktionen erweist sich die Crista durch ihre leichte Löslichkeit in Pepsin, Trypsin, 1 proz. Kalilauge als plasmatisches Gebilde. Der Körperinhalt dürfte, wie die Widerstandsfähigkeit gegen Pepsin usw. und die Löslichkeit in Trypsin und 1 proz. Kalilauge im Verein mit der Färbbarkeit mit Kernfarbstoffen erweist, der Hauptmasse nach aus Nucleoproteiden (Chromatin) bestehen. In Übereinstimmung mit den morphologischen Befunden dürfte der von einer Membran umhüllte Körper der *Cristispira* als kernartig angesehen werden (Kernstab SCHELLACK). Demnach würde er dem Zentralkörper der Bakterien entsprechen. Vergleicht man die BÜTSCHLI'schen Bakterienabbildungen (1896) mit den Bildern einer *Cristispira* (Phot. 15—18), so wird man eine große morphologische Übereinstimmung im Bau dieser beiden Organismen erkennen. Besonders die Spirillenbilder ähneln denen des Cristispirenkörpers und ich verweise hier auf die Übereinstimmung von BÜTSCHLI's Spirillenfiguren (1896 Taf. 1 Phot. 19, Taf. 3 Phot. 20) und der von mir gegebenen Abbildung (Phot. 15, 18). Bei dieser großen morphologischen Übereinstimmung zögere ich nicht, den gekammerten von einer Membran umhüllten Inhalt des Cristispirenkörpers als Zentralkörper, die diesem einseitig aufsitzende, plasmatische Crista als eine besonders differenzierte Form der plasmatischen Rindenschicht anzusprechen. Die Membran dürfte —

worauf ihre Löslichkeit in 30 proz. Kalilauge und Eau de Javelle hinweist — chitin- oder cutinartig sein. Das starke Angegriffenwerden von SCHWEIZER's Reagens deutet auf die Möglichkeit von Spuren von Celluloseeinlagerung hin.

Es mag im Vorhandensein dieser sehr widerstandsfähigen Membran die Ursache für die häufigen Funde von Cristispirenleichen zu finden sein. Die nackte plasmatische *Spirochaeta plicatilis* zerfällt beim Absterben schnell; abgestorbene *Spirochaeta plicatilis* werden niemals gefunden. Cristispirenleichenfunde sind dagegen gar nichts Seltenes und man findet tote Exemplare in sonst ganz reich mit lebenden Cristispiren infizierten Muscheln. Den toten Parasiten fehlt die Crista stets; diese ist ein überaus zartes, wie gezeigt wurde, plasmatisches Organell, welches sich beim Absterben der *Cristispira* auflöst und schnell zerfällt. Der tote Cristispirenkörper dagegen kann sich offenbar durch den Schutz der widerstandsfähigen Membran längere Zeit unverändert erhalten.

Eine weitere Methode für die Darstellung der Zellmembran ist ferner die Plasmolyse. Brachte ich die Cristispiren in 15 proz. Kalisalpeterlösung, so zieht sich der Körperinhalt ziemlich stark von den Wänden zurück und die feine, doppelt konturierte Membran wird erkennbar. Es genügt oft, die Cristispiren nur auf dem Objektträger anzutrocknen; gewöhnlich schrumpft dabei der gekammerte Inhalt und zieht sich etwas von der Membran zurück, wodurch dieselbe erkennbar wird. Die Kammerwände verdicken sich dabei ein wenig und bilden dann oft allerlei Strukturen, unter denen man recht ähnliche wie die PERRIN'schen Spiralbänder, GONDER's Vierergruppen der Chromatinkörner usw. erblicken kann.

Überaus charakteristisch sind die Bewegungen der geißellosen Cristispiren. Die Bewegung beschränkt sich in der Hauptsache auf fortwährendes blitzschnelles, sprungfederartiges Auf- und Zusammenschnellen des ganzen Körpers, wobei schraubenartige Drehungen zustande kommen; Form und Weite der Windungen ist veränderlich, Formveränderlichkeit des Körpers, wie Verdickungen, Verdünnungen, Umknicken usw. fehlt den Cristispiren ebenso wie den Spirillen. Lebensfrische Individuen bewegen sich unter den eben angegebenen Bewegungen, welche ohne Umkehren der *Cristispira* jederzeit die Richtung wechseln können, gleicherweise vor- wie rückwärts. Bei gelegentlich still liegenden Individuen ist die Crista gut zu erkennen. Etwas geschädigte, nicht mehr ganz frische Exemplare bewegen sich langsamer; an solchen Exemplaren kann man gelegent-

lich ein Einrollen eines Körperendes, seitlich pendelnde Bewegungen oder ein Geradesichausstrecken beobachten.

Die Art der einheitlichen Cristispirenbewegung mit ihrem uhrfederartigen Auf- und Zuschnellen zeigt ganz prägnante Unterschiede, mit denen auf p. 7 geschilderten aktiv flexilen, zitternden, schlagenden, tastenden, bohrenden, sich windenden Bewegungen der nackten *Spirochaeta plicatilis.* Diese sind im Bau begründet. Die charakteristischen Bewegungen der Cristispiren mögen dadurch zustande kommen, daß die plasmatische mit einer Randfibrille versehene Crista kontraktil ist. Und zwar muß die von einer lang gestreckten Randfibrille umgrenzte Crista in der Längsrichtung kontraktil sein. Der Körper ist, wie p. 29 gezeigt wurde, von einer festen Membran umgeben, welche, wie die Bewegungen lehren, elastisch sein muß, ebenso wie dies von der elastischen Zellmembran der Beggiatoen und Oscillariaceen im Gegensatz zur starren Zellmembran der Bakterien bekannt ist. Regelmäßig wiederkehrende Kontraktionen der Crista mit ihrer Randfibrille müssen peristaltische Bewegungen des in seine Ruhelage zurückstrebenden, elastischen Cristispirenkörpers bewirken, ganz ähnlich wie das bei der von einer Geißel umgrenzten, undulierenden Membran bei den Bewegungen der Trypanosomen der Fall ist.

Die Fortpflanzung der Cristispiren wird durch eine sehr charakteristische Bewegung, welche keinen Ortswechsel ausführt, eingeleitet. *Cristispira veneris* biegt sich um; das eine Ende gleitet an dem anderen entlang, bis es dasselbe erreicht. Nun gleiten die beiden Enden mehrere Minuten hin und her, als ob die *Cristispira* über einen unsichtbaren Faden aufgehängt wäre und über diesem hin und her rolle. Gross bezeichnet diesen von ihm zum ersten Male bei *Cristispira pectinis* geschilderten Vorgang, welcher die Querteilung einleitet, als Incurvation. In der Mitte des Körpers von *Cristispira veneris* zeigt sich dabei eine kleine Verdickung (Taf. 4 Fig. 13), welche durch eine Verlängerung der mittleren Kammerquerwand gebildet wird. An dieser Stelle schnürt sich die *Cristispira* durch, indem die Teilungsfurche bei *Cristispira veneris* bei den von mir beobachteten Exemplaren stets diese mittlere Kammerquerwand durchschneidet. Die so quergeteilten Cristispiren bleiben vor der definitiven Durchschnürung noch längere Zeit miteinander verbunden. Die Querteilung von *Cristispira veneris* weicht demnach nicht wesentlich von der von Gross 1910 beschriebenen Querteilung mit vorhergehender Incurvation von *Cristispira pectinis* ab. Auf weitere cytologische Details der Morphologie wie auch bei der

Teilung von Cristispiren will ich nicht näher eingehen, da GROSS' Arbeit (1910) den feineren Bau von *Cristispira pectinis* sehr eingehend schildert. Ich kann seine Resultate bestätigen und fand *Cristispira balbiani*, *pinnae*, *veneris* und *tapetos* im wesentlichen in gleicher Weise gebaut und nur in nebensächlichen Punkten abweichend. Hinzufügen will ich nur noch, daß ich außer bei *Cristispira veneris* Querteilung mit vorhergehender Incurvation bei *Cristispira tapetos*, *Cristispira pinnae* und bei der von GROSS beschriebenen *Cristispira pectinis* zu beobachten Gelegenheit hatte.

GROSS (1910) hat die Cristispirenliteratur eingehend behandelt und verweise ich daher auf seine diesbezüglichen Ausführungen.

Als Beweise für die Verwandtschaft der Cristispiren mit Flagellaten werden gewöhnlich angeführt: Längsteilung der Muschelspirochäte, ihre undulierende Membran und die Biegsamkeit ihres nackten, oder wie häufig angegeben, von einem „fibrillären Periplasten" umgebenen Körpers (PERRIN, GONDER, KEYSSELITZ, SCHELLACK).

Eine Längsteilung, wie eine solche von CERTES (1891), PERRIN (1906), KEYSSELITZ (1906), GONDER (1908, 1909), HÖLLING (1907) usw. usw. angegeben wird, existiert bei *Cristispira* nicht. Die vegetative Vermehrungsweise der Cristispiren besteht stets, wie schon LAVERAN und MESNIL (1901), SWELLENGREBEL (1909), SCHELLACK (1909) und GROSS (1910) betonen, und wie auch ich bei den oben angegebenen Species zu beobachten Gelegenheit hatte, in einer Querteilung, welche, wie ich die Untersuchungen von GROSS 1910 durchaus bestätigen kann, durch Incurvation als für *Cristispira* charakteristisch, eingeleitet wird.

Die Annahme des Vorhandenseins eines Periplasten ist, worauf auch GROSS bereits hinweist, einer Analogie mit Flagellaten entlehnt. Es wird von den unter dem Eindruck der Flagellatennatur der Cristispiren stehenden Forschern immer wieder vom Periplasten der *Cristispira* gesprochen. Der erste, der denselben wirklich zu beschreiben versucht, ist SCHELLACK und auch er hält offenbar den, unter dem Eindruck der Trypanosomennatur der Muschelspirochäten postulierten Periplasten für bewiesen. Ein fasriger Periplast ist jedoch, wie bereits GROSS (1910) hervorhebt, nie vorhanden.

Ich hoffe durch die Mikroreaktionen deutlicher wie dies an gefärbten Präparaten möglich ist, nachgewiesen zu haben, daß der drehrunde, aus einer Reihe chromatischer Kammern zusammengesetzte

Cristispirenkörper von einer einheitlichen, doppelt konturierten Zellmembran umgeben ist.

Eine undulierende Membran ist bei *Cristispira* nicht vorhanden. Die plasmatische Crista stellt in ihrer Funktion ein der undulierenden Membran wahrscheinlich analoges Organell dar. Aber morphologisch betrachtet: die plasmatische Crista sitzt der von einer festen Membran umgebenen, cylindrischen *Cristispira*-Zelle auf. Die undulierende Membran dagegen stellt eine hautartige Verbreiterung des Körperplasmas dar, welche sich längs der konvexen Seite des Körpers hinzieht (Bütschli 1888). Sie wird von einer echten Flagellatengeißel begrenzt, welche genetisch sets mit einem — bei *Cristispira* niemals vorhandenen — Blepharoplasten in Verbindung steht. Es zeigt sich demnach, daß die häufig als undulierende Membran bezeichnete Crista der Cristispiren, welche einem von einer Zellmembran umgrenzten cylindrischen Körper aufsitzt, bei einer gewissen äußeren Ähnlichkeit ein durchaus anderes Gebilde darstellt; ein der undulierenden Membran analoges aber nicht homologes Gebilde, welches daher für Verwandtschaftsbeziehungen systematisch nicht verwendet werden kann. Die Crista ist ein Gebilde sui generis, wofür Homologa bisher nicht bekannt sind.

Schellack (1909) betrachtet die Crista als ein Kunstprodukt. Nach seiner Meinung umgibt ein fibrillärer Periplast allseitig den Cristispirenkörper. Nur da, wo der Periplast verletzt, losgelöst ist, täusche er eine undulierende Membran vor. Schellack hat die Crista im Gegensatz zu Certes, Laveran und Mesnil, Gross und mir, nicht lebend gesehen. Schellack hat offenbar eine Crista auf Präparaten nur dort bemerkt, wo sie von der Kante zu sehen ist. Da wo sie von der Fläche gesehen, sich dem Cristispirenkörper eng anschmiegt, ist sie ihm wohl entgangen. Und er hat dann die dunkler gefärbte Körperpartie als unverletzten Periplasten gedeutet.

Vergleicht man den Bau der Cristispiren mit dem einer typischen *Spirochaeta*, mit *plicatilis*, so ist ein charakteristischer systematischer Unterschied im Vorhandensein einer Zellmembran bei *Cristispira* und im Fehlen einer solchen bei der nackten, plasmatischen *Spirochaeta* zu erblicken. Die Zellmembran ist offenbar bei *Cristispira* ebenso wie bei den Bakterien das formgebende Element. Ein Achsenstab ist bei *Cristispira* niemals vorhanden. Der Achsenstab ist aber eines der charakteristischsten Merkmale der *Spirochaeta plicatilis*. Ein weiterer, durchgreifender Unterschied besteht im Vorhandensein der Crista, welche dem drehrunden Cristi-

spirenkörper aufsitzt und für welche ein Homologon bei *Spirochaeta plicatilis* fehlt.[1])

Querteilung ist bei beiden Organismengruppen vorhanden, verläuft aber ihrer verschiedenen Organisation entsprechend ungleichartig.

Der Unterschied im Bau von *Spirochaeta* und *Cristispira* in allen wesentlichen Punkten ist demnach ein so großer, daß ich es für berechtigt halte, *Cristispira* und *Spirochaeta* als zwei verschiedene Genera zu bezeichnen. Ich halte sogar eine nähere Verwandtschaft dieser beiden Genera für ausgeschlossen und es demnach nicht für angängig, sie in einer Familie zu vereinigen. Der feinere Bau der Cristispiren scheint mir vielmehr, wie ich bereits p. 29 anführte, auf nähere Verwandtschaftsbeziehungen zwischen Cristispiren und Bakterien hinzuweisen, Beziehungen, auf welche bereits Laveran et Mesnil (1901) und Gross (1910) hinzeigten. Deshalb möchte ich das Genus *Cristispira* den Bakterien und zwar den Spirillaceen angliedern. Weitere Verwandtschaftsbeziehungen der Cristispiren zu den Oscillatoriaceen werde ich im folgenden Absatz besprechen und den Cristispiren ihre Stellung im System zwischen Spirillaceen und Oscillatoriaceen, also zwischen den beide nahe verwandten Gruppen der Bakterien und Schizophyceen anweisen.

3. Cyanophyceen.

Bütschli (1896) weist auf den im Prinzip übereinstimmenden Bau von *Spirulina* und *Spirochaeta plicatilis* und auf eine Verwandtschaft dieser beiden Organismen hin, ebenso wie dies vom botanischen Standpunkte aus von F. Cohn, Migula, Kirchner u. a. geschehen ist. Bütschli (1896) war der erste und ist der einzige geblieben, der eine feinere cytologische Untersuchung bei *Spirulina* ausführte.

[1]) Schellack (1909) spricht die Ansicht aus, ohne allerdings *Spirochaeta plicatilis* selbst beobachtet zu haben, daß der Achsenfaden der *Spirochaeta plicatilis*, wie ihn Bütschli abbildet, nicht innen die *Spirochaeta* durchziehe, sondern der *Spirochaeta* außen aufsitzen könnte, und ebenso wie die Crista der Cristispiren einen durch künstliche Eingriffe geschädigten Periplasten darstelle. Gross hält es ebenfalls nach Bütschli's Abbildung — gleichfalls ohne *Spirochaeta plicatilis* beobachtet zu haben — für vorstellbar, daß der Achsenfaden außen dem Spirochätenkörper anliege und dann wohl ein der Crista homologisierbares Organell sein könnte. Im Gegensatz zu diesen Darstellungen muß ich nochmals betonen, daß der Achsenfaden, wie im Leben zu erkennen ist, den Körper der *Spirochaeta plicatilis* durchzieht, d. h. im Innern des Körpers gelegen ist und demnach keinerlei Vergleichspunkte für eine Crista oder eine undulierende Membran darbietet.



Bütschli's Meinung und Abbildung 1896 (Taf. 5 Fig. 2) ist in der Spirochätenliteratur der letzten Jahre häufig citiert und für die systematische Stellung der Spirochäten als wichtig herangezogen worden, ohne daß *Spirulina* selbst von neuem untersucht worden wäre. Ich hielt es deshalb für wünschenswert, *Spirulina* cytologisch und vergleichend morphologisch einer erneuten Untersuchung zu unterziehen.

Spirulina ist nicht selten. Es stand mir zur Verfügung: *Spirulina versicolor* Cohn (Phot. 22, 23), welche sich in einem großen Meerwasseraquarium unseres Instituts in ganz beträchtlichen Mengen angesiedelt hatte. — Ferner *Spirulina tenuissima* Kützing (Phot. 21) und vereinzelt die farblose, saprophytische *Spirulina albida* Kolkwitz (Phot. 20). Außerdem wurde *Arthrospira jenneri* Stbg. (Phot. 24) zum Vergleich herangezogen und untersucht.

Als Diagnose für das Cyanophyceengenus *Spirulina* Turpin wird angegeben (Engler-Prandtl): scheidenlose Fäden, welche aus einer einzigen, langen, cylindrischen, schraubig gedrehten Zelle bestehen und lebhafte Kriechbewegungen zeigen. Das Genus *Arthrospira* unterscheidet sich vom Genus *Spirulina* durch den Besitz von Querwänden, d. h. durch seine Vielzelligkeit.

Spirulina wird wie alle übrigen Oscillatorien von einer festen, doppelt konturierten, elastischen Membran umgeben. Diese Membran der *Spirulina* zeigt die Cellulosereaktion nicht. Sie ist sehr widerstandsfähig gegen Pepsin, Trypsin, verdünnte Mineralsäuren, verdünnte Kalilauge und löst sich in konzentrierter Kalilauge beim Erhitzen, scheint demnach cutinartiger Natur zu sein.

Setzte ich *Spirulina tenuissima* oder *versicolor* 1—2 Tage der Trypsineinwirkung bei 40° aus, so wird der Zellinhalt aufgelöst. Es zeigt sich nun, daß *Spirulina*, ganz ähnlich wie *Arthrospira*, Querwände besitzt. Dieselben sind nur bei den sehr schmalen Spirulinen (scheinbare Dicke 3—4 μ, wirkliche des sich engspiralig drehenden Fadens $1^1/_2$—2 μ) sehr viel schwerer wahrzunehmen als bei den erheblich breiteren Arthrospiren. Nachdem der Weichkörper größtenteils durch Trypsin fortgelöst ist, treten die Querwände von *Spirulina* deutlich hervor und zwar besteht jede Windung der steil spiralig gewundenen *Spirulina* aus einer Zelle. Nachdem ich auf diese Weise die Querwände in den 200—400 μ lang werdenden Fäden nachgewiesen hatte, gelang es mir bisweilen bereits im Leben, die Quer-

[1] Ich verdanke das Material von *Spirulina albida* der Güte des Herrn Prof. Kolkwitz.

wände an besonders dicken Exemplaren zu erkennen. Ich hätte mich aber nicht sicher für das Vorhandensein der Querwände entscheiden können, wenn ich nicht an solchen Exemplaren den Nachweis der Querwände durch die Auflösung des Weichkörpers in Trypsin einwandsfrei hätte erbringen können. 1 proz. Kalilauge anstatt Trypsin zum Fortlösen des Weichkörpers für den Nachweis der zarten Querwände zu nehmen, ist nicht ratsam, weil in Kalilauge die Membran ziemlich stark quillt und die Verhältnisse dann erheblich undeutlicher sind, wie nach Trypsinvorbehandlung.

Der Nachweis der Querwände bei *Spirulina*, ähnlich denen der *Arthrospira* bedeutet natürlich, daß *Spirulina* ebenso wie *Arthrospira* vielzellig ist. *Arthrospira* wurde wegen des Besitzes der Querwände. d. h. wegen ihrer dadurch festgestellten Vielzelligkeit von STITZENBERGER (Hedwigia 1854) vom Genus *Spirulina* abgetrennt und in eine eigene Gattung gestellt. Diese Trennung besteht demnach zu Unrecht; *Spirulina* ist ebenfalls vielzellig und wie alle übrigen Oscillatorien aus gleichartigen Zellen zusammengesetzt.

Der Weichkörper der *Spirulina* enthält den blaugrünen bis purpurroten gelösten Farbstoff (Phycochron F. COHN 1867). Der Weichkörper ist, wie bei günstigen Exemplaren bereits im Leben. besser aber auf Präparaten erkennbar ist, regelmäßig alveolär gebaut. Zentral liegt eine dichtgedrängte Reihe von Körnern, welche im Leben farblos und stark lichtbrechend sind. Diese färben sich mit Methylenblau rötlich und bestehen nach A. MEYER's Reaktionen (1904) aus Volutin. Sie weichen von MEYER's als Volutin charakterisiertem Körper (p. 12) dadurch ab, daß sie sich in heißem Wasser nicht lösen. Nach der Behandlung mit heißem Wasser verlieren die Körner ihre Färbbarkeit. Sie sind ungefärbt aber noch nachweisbar. Die Körner werden also durch die Behandlung mit heißem Wasser irgendwie verändert, aber nicht gelöst. Es ist dies ein erneuter Beweis dafür (p. 12[1]), daß Volutin im chemischen Sinne ein Sammelbegriff ist.

Es scheinen in der zentralen Körnerreihe außer den Volutinkörnern noch Chromatinelemente vorhanden zu sein; doch vermochte ich dies durch A. MEYER's Reaktionen nicht sicher zu entscheiden. Die Körnchenreihe liegt zentral in dem cylindrischen, sich bei der marinen *Spirulina versicolor* in sehr steilen Spiralen windenden Zellfaden. Die Körnchenreihe macht demnach alle Spiralwindungen des cylindrischen Fadens, den sie schnurgerade durchzieht, mit. Der die *Spirulina* durch seine steilen Spiralwindungen bildende einzelne Algenfaden ist im Querschnitt kreisrund und die Körner befinden

sich zentral. Das Plasma umgibt also die Körnerreihe allseitig gleichmäßig. Zum Vergleich für die Organisation einer *Spirulina* möchte ich an einen Wachsstock erinnern. Die *Spirulina* ist wie ein sehr eng gewickelter Wachsstock gebaut; die Körnchenreihe liegt da, wo im Wachsstock sich der Docht befindet (Phot. 21—22).

Bei den übrigen Oscillatorien ist bekanntlich eine Differenzierung in eine plasmatische, im Leben blaugrün gefärbte Rindenschicht und einen im Leben farblosen, kernartigen Zentralkörper vorhanden. Im Zentralkörper liegen in einem, sich mit Hämatoxylin blau färbenden sehr feinwabigem, gegen Pepsin widerstandsfähigem, plastinartigem Gerüst, die mit Kernfärbstoffen sich stark färbenden „roten Körner“ Bütschli's eingelagert.

Eine Differenzierung in ungefärbtem Zentralkörper und gefärbte Rindenschicht ist bei der im Leben blaugrün bis rötlich gefärbten, von einer zentralen Reihe farbloser, stark lichtbrechender Körner durchzogenen *Spirulina versicolor* nicht nachweisbar. Auf Präparaten von mit Flemming'scher Flüssigkeit, Sublimatgemischen oder Jodalkohol konservierten Spirulinen färbt sich die zentrale Körnchenreihe scharf und distinkt mit Kernfarbstoffen. Die Grundsubstanz bleibt aber blaß und ungefärbt. Die Körner liegen in dem alveolären Plasma. Eine plastinartige, sich stärker färbende, zentral gelegene, vom Plasma abgesetzte Gerüstsubstanz konnte ich bei den schmalzelligen Spirulinen nicht nachweisen. Auch mit Verdauungsversuchen mit Pepsin und Trypsin ließ sich eine Differenzierung durch verschiedene Löslichkeit der Grundsubstanz nicht erkennen (Phot. 21, 22).

Will man bei *Spirulina* von Rindenschicht und Zentralkörper sprechen, so muß man hervorheben, daß in dem Falle nur die mit Kernfarbstoffen sich stark färbende zentral gelegene Körnerreihe den Zentralkörper repräsentiert. Daß aber eine wabige oder wabig faserige Plastinzentralkörpergrundsubstanz, in welche die Körner eingelagert sind und wodurch morphologisch der kernartige Charakter des Zentralkörpers bei Bakterien und Oscillatorien zustande kommt, bei *Spirulina versicolor*, *tenuissima* und *albida* nicht nachweisbar ist.

Spirulina versicolor gedeiht sehr üppig in gut beleuchteten und mittels Durchlüftungsanlage gut durchlüfteten, großen Seewasseraquarien, in welchen viele Tiere z. B. Serpuliden, Hydroiden usw. leben. Besonders dort, wo die Luft eingeleitet wird und an der dem Lichte zugekehrten Glaswand des Aquariums siedelten sich üppige Polster der lebhaft beweglichen *Spirulina versicolor* an, welche in ihrer Färbung alle Übergänge vom hellen Rot bis zum tiefen

Blaugrün zeigten. Die roten Exemplare fand ich meist lebhafter beweglich als die grünen. Die Dicke kann beim gleichen Faden an den beiden Enden bis $^3/_4$ μ verschieden sein. Häufig ist ein Ende rot, das andere grünlich, und im Verlaufe des Fadens kann man den Farbenübergang verfolgen.

Ich isolierte *Spirulina versicolor* in runden, zugedeckten Glasschalen, in welchen sie sehr gut gedeiht. Diese brachte ich unter verschiedene Lebensbedingungen, weil ich die Ursachen, welche die verschiedenen Färbungen verursachen können, kennen lernen wollte. Ich trachtete danach, die verschiedenen Faktoren, welche mir hierfür in Betracht zu kommen schienen, möglichst zu isolieren.

Spirulina hielt sich isoliert sehr gut und vermehrte sich unter den verschiedensten Kulturbedingungen: kalt bis 4°, warm bis 19°, durchlüftet und undurchlüftet, in verschieden abgestufter Beleuchtung vom 23. Oktober bis zum 10. Januar. — Aber in den verschiedenen Kulturen fand ich niemals mehr rote Exemplare, alle roten Spirulinen waren ergrünt und ich erhielt unter den gut wachsenden Spirulinen niemals solche mit roter Färbung.

GAIDUKOV hat (1904) für verschiedene Oscillatorien eine Beeinflussung ihrer Färbung durch farbiges Licht angegeben und zwar verläuft nach seinen Angaben die Farbveränderung gesetzmäßig komplementär zu der jeweiligen Einwirkung der Lichtfarbe. Nach GAIDUKOV wird erzielt:

Lichtfarbe:		Oscillatorienfärbung:
rot	—	grün
gelbbraun	—	blaugrün
grün	—	rötlich
blau	—	braungelb.

Ich brachte *Spirulina* in zugedeckten flachen Glasschalen, in denen sie sehr gut gedeiht, unter blaue, grüne und gelbbraune Glasglocken.[1]) Kontrollkulturen wurden bei Tageslicht unter gleichen Bedingungen aufgestellt. Die Spirulinen gediehen gut und wuchsen üppig. Die Versuche gingen vom 22. Oktober 1910 bis zum 28. Januar 1911. In den zugedeckten Kontrollkulturen bei Tageslicht wurden alle Spirulinen blaugrün. In den zugedeckten Versuchskulturen waren in der unter blauem Glas ebenfalls alle blaugrün; in der unter grünem Glas waren vereinzelte rötlich, die meisten blaugrün.

[1]) Die blaue Glocke war gefüllt mit Methylenblaulösung, die gelbe mit Methylorangelösung, die grüne mit Methylorange gemischt mit Methylenblaulösung; alle Lösungen stark verdünnt. Neue Versuche mit spektroskopisch reinen Farben nach NAGEL's Rezepten sind im Gange, aber noch nicht abgeschlossen.

Unter gelbem Glas dagegen fand ich wider Erwarten bereits am 4. Januar fast alle Spirulinen rot, nur ganz vereinzelte blaugrün. Ich kann also Gaidukov's Angaben der komplementären Färbungsgesetzmäßigkeit, wenigstens für *Spirulina versicolor*, nicht bestätigen.

Über die Färbungsursachen der nach Cohn phycocyanhaltigen *Spirulina versicolor* kann ich aussagen, daß ich durch Kultivieren im gelben Licht ganz vorwiegend rote Spirulinen erhielt. Im grünen Licht ganz vereinzelte rote Exemplare, die meisten waren blaugrün; unter blauem Glas und im Tageslicht waren alle Spirulinen in den von jedem Versuch dreimal aufgestellten Schalen blaugrün geworden. Die roten Exemplare fand ich auch hier stets lebhafter beweglich als die grünen. Im feineren Bau konnte ich keine Unterschiede entdecken.

Auch im Halbdunkel bei Zimmertemperatur (bei 14°) gedeiht *Spirulina* gut (Versuch vom 10. Oktober bis zum 10. Januar). Sie bleibt grün, wird aber etwas blasser grün als die im hellen Tageslicht gehaltenen Spirulinen.

Bei der dem Stammaquarium entnommenen *Spirulina* ist, wie bereits oben ausgeführt wurde, zentral stets eine Körnerreihe wahrzunehmen (Phot. 21, 22). Der Ausbildungsgrad dieser Körnerreihe schwankt. Meist liegen die Körner dicht gedrängt und sind annähernd gleich groß. Mitunter liegen die Körner nicht ganz dicht und sind von untereinander ungleicher Größe (Taf. 4 Fig. 18—20, Phot. 23). Eine Gesetzmäßigkeit in dem Ausbildungsgrade der zentralen Körnerreihe zwischen grünen und roten Spirulinen konnte ich nicht feststellen.

Auch bei den wegen der Färbungsversuche unter verschiedenen Kulturbedingungen und in verschiedenfarbigem Lichte gehaltenen Spirulinen fielen mir wieder die zum Teil recht starken Veränderungen der Ausbildung der zentralen Körnerreihe auf. Nur schienen häufiger die Körner in ihrer Größe untereinander zu variieren; ich fand hier häufiger als bei Spirulinen aus dem großen Stammaquarium große und kleine Volutinkörner (Taf. 4 Fig. 20). An den großen Körnern kann man mit Deutlichkeit wahrnehmen, daß sie hohl sind. Eine Gesetzmäßigkeit der Veränderungen der zentralen Körner konnte ich nur bei den im Halbdunkel gehaltenen Spirulinen feststellen. Hier finden sich nur noch ganz vereinzelte, zum Teil recht beträchtlich große Volutinkörner isoliert und ganz unregelmäßig verteilt (Taf. 2 Fig. 19). Brachte ich Spirulinen mit derartig veränderter zentraler Körnerreihe in helles Tageslicht, führte ihnen mit dem Durchlüftungsapparat dauernd frischen Sauerstoff in Form

von feinen Luftbläschen zu und wechselte ihr Kulturwasser mit Wasser aus dem großen Stammaquarium alle drei Tage, so konnte ich nach etwa 2 Wochen in den drei Kulturen konstatieren, daß die zentrale Körnerreihe wieder die gleiche, ziemlich gleichmäßig dicht gedrängte zentrale Anordnung hatte, wie bei normaler *Spirulina*, während die vierte im Dunkeln gelassene Kultur unverändert war. Die Veränderungen der zentralen Volutinkörner der sonst ganz gut gedeihenden, ein wenig abgeblaßten Spirulinen bei Lichtmangel scheint eine Stütze für A. MEYER's Annahme zu bedeuten, daß das Volutin Reservenahrung darstellt.

A. MEYER betrachtet das Volutin als Reservestoff, welcher physiologisch in eine Kategorie mit Fetten und Kohlehydraten zu stellen ist und hält es für eine Nucleinsäureverbindung.

Süßwasseroscillatorien, welche sich in Nährlösungen gut züchten lassen, werden einen Aufschluß über den direkten Einfluß verschiedenartiger Kulturflüssigkeiten auf den Ausbildungsgrad der Volutinkörner liefern können. Meine diesbezüglichen Versuche sind erst im Anfang. Ich züchtete *Oscillatoria* (*limosa?*) aus dem Süßwasser auf Gipsplättchen in MOLISCH's Algennährlösung. Dieselbe muß nach MOLISCH's Angabe zum Züchten von *Oscillatoria* schwach alkalisch reagieren.

250 g H_2O
0,2 g $PO_4(NH_4)_2H$
0,1 g PO_4KH_2
0,1 g SO_4Mg
0,1 g SO_4Ca
+ 2 Tropfen einer 1 proz. Eisenvitriollösung.

Oscillatoria (*limosa?*) gedeiht und wächst in dieser Lösung gut. Die kurzen Zellen der Oscillariafäden in solchen Kulturen deuten auf eine lebhafte Teilungsintensität der Zellen hin (Taf. 4 Fig. 24). Der deutlich abgesetzte Zentralkörper enthält viele und ungleich große Volutinkugeln, welche zum Teil an der Oberfläche des Zentralkörpers liegen und dann in die Rindenschicht vorspringen.

Das Volutin soll nach A. MEYER's Annahme aus einer Nucleinsäureverbindung bestehen. Nucleinsäureverbindungen weisen bekanntlich einen hohen Phosphorgehalt, einen bedeutend größeren als die Nucleoproteide, auf.

Zur Prüfung dieser Frage, ob das Volutin einen derartigen phosphorreichen Körper darstelle, züchtete ich die gleiche *Oscillatoria* (*limosa?*) in der von REICHENOW für *Haematococcus pluvialis* angegebenen phosphorfreien Nährlösung:

1000 g H_2O
0,2 g $(NH_4)_2CO_3$
0,2 g $MgSO_4$
0,2 g $CaSO_4$
0,2 g KNO_3.

Die Teilungsintensität derartig gezüchteter Oscillarien ist eine viel geringere. Dies zeigt sich in der erheblicheren Größe der einzelnen Oscillatorienzellen (Taf. 4 Fig. 25). Die Volutinkörner in dem Zentralkörper sind klein, sehr spärlich vorhanden und fehlen bisweilen ganz. Die sehr feinwabige, plastinartige Grundsubstanz des Zentralkörpers, welche sich mit Hämatoxylin bläulich färbt, geht, ohne scharf abgesetzt zu sein, in die stets erheblich größeren Waben der Rindenschicht über. Brachte ich derartig veränderte Fäden in MOLISCH's Nährlösung, so konnte ich nach einer Woche bemerken, daß die Wachstumsintensität erheblich zunahm. Die Zellen teilen sich lebhafter und die Volutinkörner des Zentralkörpers vermehren und vergrößern sich erheblich. Auf Präparaten gleichen derartige Oscillatorien wieder ganz den auf Taf. 4 Fig. 24 abgebildeten normalen Exemplaren.

Experimente, welche den Einfluß der einzelnen Stoffe der Lösungen auf die Ausbildung der Volutinkörner zeigen sollen, sind noch nicht abgeschlossen. Sie würden auch den Rahmen dieser Arbeit überschreiten.

Das Verhalten des Volutins stimmt gut mit der von A. MEYER vermuteten Natur des Volutins als Reservenahrung überein. Auch bei *Spirochaeta plicatilis* schwanken, wie ich p. 11 u. 18 berichtete, die Volutinkörner in den verschiedenen Ernährungsbedingungen, verschiedenen Fundorten und Kulturen stark in ihrem Ausbildungsgrad.

Vergleicht man den feineren Bau von *Spirulina* mit dem von *Spirochaeta plicatilis*, so fällt zunächst die Vielzelligkeit und das Vorhandensein der allen Oscillatoriaceen zukommenden starken Zellmembran bei *Spirulina*, gegenüber den nackten, einzelligen Spirochäten als Unterschied ins Auge, welcher systematisch von Wichtigkeit ist.

BÜTSCHLI (1896) p. 25 beschreibt *Spirulina*: „Die Rindenschicht umhüllt den fadenförmigen, schwach schraubig gewundenen Zentralkörper nicht allseitig gleichmäßig, sondern windet sich ebenso wie bei *Spirochaeta plicatilis* schraubenförmig um den Zentralkörperfaden herum." In der Abbildung Taf. 5 Fig. 2 bildet BÜTSCHLI einen fadenförmigen Zentralkörper bei *Spirulina* ab. Dieser weist keine wabige Struktur auf, was bei den entsprechenden Gebilden der

Bakterien und Cyanophyceen sonst der Fall ist. Ich muß aber darauf hinweisen, daß BÜTSCHLI von dieser oft zitierten *Spirulina*, welche einen Achsenfaden zeigt, p. 86 als von einem „spirulinaartigem Organismus" spricht und angibt, „daß die Bestimmung nicht sicher möglich sei, da die Form nicht lebend, sondern nur im Präparat gesehen wurde". Ich habe einen fadenförmigen Zentralkörper bei *Spirulina albida*, *versicolor* und *tenuissima* niemals finden können und dort auch nicht gesehen, wie es bei *Spirochaeta* stets der Fall ist, daß sich die Rindenschicht schraubenartig, nicht allseitig gleichmäßig um den Zentralkörper herumwindet. Der stets körnige, niemals fibrillenartig einheitliche Zentralkörper der *Spirulina* verläuft zentral und wird allseitig gleichmäßig vom Plasma umgeben (Phot. 21, 22). Er verläuft etwa wie der Docht im Wachsstock, während sich das Plasma der *Spirochaeta* um einen einheitlichen, elastischen, gerade gestreckten Achsenfaden windet, etwa der sich um einen Äskulapstab windenden Schlange vergleichbar. Ich komme daher zu der Ansicht, daß die dem Bau der *Spirochaeta* allerdings sehr stark ähnelnde Abbildung BÜTSCHLI's keine *Spirulina* darstellt.

Arthrospira jenneri bildet Fäden (Taf. 2, Phot. 24), welche oft eine Länge von 500 μ bei einer Dicke von 9 μ erreichen. Bei *Arthrospira* sind bereits im Leben die Querwände deutlich erkennbar. An den Querwänden liegen dichtgedrängt feine Körner (Taf. 4 Fig. 22; Phot. 24 b am Pfeil), welche im Leben farblos und stark lichtbrechend sind. Die breiten *Arthrospira*-Fäden zeigen eine Differenzierung in im Leben farblosen Zentralkörper und blaugrün gefärbte Rindenschicht. Der breite Zentralkörper zeigt eine sich mit DELAFIELD'schem Hämatoxylin blau färbende, feinwabige, gegen Pepsin widerstandsfähige Gerüstsubstanz, in welche viele Volutinkörner (rote Körner BÜTSCHLI's) eingelagert sind (Taf. 4 Fig. 21; Phot. 24). Auch hier zeigt also der Zentralkörper niemals eine einheitliche fibrilläre Bildung, welcher dem Achsenfaden der *Spirochaeta* vergleichbar wäre, sondern ist aus einer großen Menge von Körnern zusammengesetzt.

Es scheint mir wohl gerechtfertigt, die zentrale Körnerreihe der Spirulinen zu homologisieren mit den Volutinelementen, den „roten Körnern" der *Spirochaeta*. Für den einheitlichen, fibrillären Achsenfaden der Spirochäten jedoch kann ich in dem zusammengesetzten körnigen Zentralkörper der Cyanophyceen kein Homologon erblicken.

Ich habe versucht, die prinzipiellen Unterschiede in der Bauart dieser scheinbar einander so ähnlichen Organismen durch ein Schema

(Taf. 3 Fig. 1—4) zu veranschaulichen. Die Stütz- oder Skeletelemente sind blau, die chromatischen und Volutinelemente rot, das Plasma grau eingezeichnet, und ich hoffe, die Verschiedenartigkeiten des Baues von *Trypanosoma*, *Cristispira*, *Spirulina* und *Spirochaeta* dadurch besser veranschaulichen zu können. — Das skelet- oder formbildende Element ist bei Trypanosomen die die undulierende Membran begrenzende Geißel, welche am Rande außen liegt (s. Querschnitt Fig. 1 b). Bei *Cristispira* (Fig. 2) ist eine den ganzen Körper umgebende Zellmembran ebenso wie *Spirulina* (Fig. 4) vorhanden (blau). *Spirochaeta* (Fig. 3) dagegen hat einen festen, elastischen Achsenstab, welcher im Körperinnern gelegen ist (blau) und welcher von den Volutinelementen umgeben wird, während bei *Spirulina* die Volutinelemente zentral zu einer Körnerreihe angeordnet sind.

Die den Oscillariaceen zukommenden charakteristischen Bewegungserscheinungen wurden von F. COHN, MIGULA, SCHELLACK, GROSS u. a. für die Verwandtschaft der Oscillariaceen, speziell der Spirulinen und Spirochäten herangezogen. Die Bewegung der Oscillariaceen besteht gewöhnlich in einem geraden Vorwärts- und Rückwärtsgleiten auf einer festen Unterlage. Oscillarien sind nach KOLKWITZ (1896, 1897) imstande, in 10 Sekunden eine Strecke von 40 μ, *Arthrospira* eine solche von 24 μ zurückzulegen. Ich fand die intensivste Bewegung bei mäßiger Beleuchtung. Bei starker Belichtung und im Schatten sah ich die Bewegungen langsamer werden; sie können auch im Dunkeln fortgeführt werden. Bei Sauerstoffmangel ist stets ein Nachlassen und Aufhören der Bewegungen zu konstatieren.

Bei der Bewegung rotieren Oscillarien und Spirulinen ständig um die eigene Längsachse. Das jeweilige Vorderende ist ein wenig gekrümmt und vollführt Kreisbewegungen, welche bei der Bewegung von *Spirulina* besonders gut zu beobachten sind, und welche ich speziell bei der roten Form der *Spirulina versicolor* als lebhafte schildern kann. *Spirulina* beschreibt oft mit dem einen Ende einen Kreis, während der Faden sonst still an einer Stelle liegen bleibt. Bei der Lokomotion gleiten die Fäden in der Richtung ihrer Längsachse unter ständigem Rotieren vorwärts. Zur Bewegung bedürfen sie einer festen Unterlage, an welcher sie festhaften. Löst man die Fäden von dieser Unterlage mit einer Nadel los, so sistieren die Bewegungen. Die Fäden benutzen auch einander zur Unterlage, wobei die Spirulinen und Arthrospiren sich häufig ineinander fest verschrauben. Nach einiger Zeit des Vorwärtskriechens macht der Faden halt, um nach entgegengesetzter Richtung fortzukriechen.

Brachte ich Oscillarien oder Spirulinen fein verteilt in das Kulturwasser, so sanken sie stets zu Boden und siedelten sich an den Glaswänden des Behälters an, und erst hier begannen sie sich vorwärts zu schieben. Frei schwimmende *Spirulina* oder *Oscillaria* sah ich nie. Sie haben offenbar nicht die Fähigkeit, im freien Wasser zu schweben.

Von Oscillarien ist bekannt, daß sie bei der Bewegung (*Oscillatoria princeps*) Schleim, ähnlich den Schleimspuren der Diatomeen und Gregarinen, absondern. Ich konnte dies gelegentlich bei den breiteren Formen mittels fein verriebener Tusche zur Darstellung bringen. Dieser Schleim ermöglicht ein Haften auf der Unterlage und schafft wohl den nötigen Fixationspunkt für die Lokomotionen.

Als zweite Bewegungsart wird eine der revolutiven Nutation höherer Pflanzen vergleichbare angegeben. Ich habe sie nicht selbst beobachtet (KOLKWITZ 1897).

Die Oscillatorien- und Spirulinenmembran ist überaus elastisch. Man erkennt dies, wenn der Faden im Kriechen an irgend welche Partikelchen stößt und sich zu Schleifen und Windungen sehr stark krümmen kann, ohne jemals dabei einzuknicken. KOLKWITZ (1897) hat gezeigt, eine wie hohe Elastizität *Arthrospira jenneri* aufweist. Er ließ eine *Arthrospira jenneri* an beiden Enden auf dem Objektträger festtrocknen. Das dazwischen liegende, feucht gehaltene Stück zog er mit einer Nadel so lange aus, bis die Windungen verschwunden waren; beim Loslassen bog sich der Faden wiederum spiralig. — Wenn ein rechtwinklig gebogener Oscillarienfaden mit einer Nadel vom Objektträger losgelöst wird, so streckt er sich ziemlich gerade aus und kriecht dann gerade so weiter, wenn er wieder dem Objektträger fest aufsitzt. Lange Spirulinenfäden können sich bald in der Mitte, bald am Ende krümmen. Diese Krümmungen sind nicht spontan, sondern werden der *Spirulina* und *Oscillaria* durch Ankleben an der Unterlage aufgenötigt, oder dadurch, daß diese beim Vorwärtsgleiteu an Fremdkörper stoßen. Sie besitzen demnach, im Gegensatz zu Spirochäten, keine aktive Flexibilität.

Kurze, lebende und wachsende Bruchstücke von Oscillarien und Spirulinen fand ich stets unbeweglich, eine Tatsache, welche mir für den Bewegungsmechanismus der Oscillatorien von Wichtigkeit zu sein scheint.

Arthrospira jenneri zeigt während der Bewegung sehr lebhafte Plasmaströmungen.

Über die inneren Ursachen der extracellulären Bewegungen bei den Oscillatoriaceen sind die Meinungen sehr geteilt.

Als ich die Bewegungserscheinungen der Oscillatorien studierte, brachte ich gut bewegliche Oscillarienfäden (*limosa?*) in Wasser, in welchem ich Tusche sehr fein verrieben hatte. Es zeigte sich, daß der Oscillarienfaden dann außen ein feines Spiralband zeigte, das dadurch deutlich wurde, daß die Tuschepartikelchen sich daran ansammelten (Taf. 4 Fig. 23). Bei der Bewegung der *Oscillaria* wurden die Tuschepartikelchen nach der entgegengesetzten Richtung verschoben als diejenige war, nach welcher die Oscillarie kroch. — Ob das Spiralband aus Schleim oder aus Plasma besteht, vermag ich nicht zu entscheiden. Es wird von Pepsin und $^1/_2$ proz. Sodalösung zerstört.

Würde es sich herausstellen, daß das Band aus Plasma besteht, so würde dies die Erklärung der Oscillarienbewegung wesentlich vereinfachen. Man müßte sich dann vorstellen, daß dieselbe durch aktiv sich bewegende, intracelluläre Plasmaströme veranlaßt würde. Es sind in der Oscillarienmembran durch Kolkwitz (1897) und Correns Tüpfel und Poren bekannt, durch welche das Plasma oder auch Schleim vom Zellinneren nach außen gelangen könnte. Als ich das Spiralband außen am Oscillarienfaden nachwies, wußte ich nicht, daß bereits Hansgirg (1887) ein ähnliches Spiralband in einer wie es scheint, wenig bekannten Abhandlung beschrieben hat.

Wenn die vorliegenden Untersuchungen über die Bewegungen der Oscillatorien und Spirulinen auch sehr fragmentarisch sind, so hoffe ich doch, daß sie das zeigen, was sie zeigen sollen: daß stets ein typischer Unterschied zwischen der Bewegung der Oscillatoriaceen und Spirochäten besteht. Obgleich nun eine gewisse Ähnlichkeit bei beiden Organismen in der Drehung um die Längsachse bei den Ortsbewegungen vorhanden ist, und ferner darin, daß nach kurzen Vorwärtsbewegungen der Körper stehen bleibt, und, ohne die Körperrichtung zu wechseln, sich nach rückwärts bewegen kann, so ist im Prinzip die Bewegungsart doch eine durchaus verschiedene. Bei den von einer, wenn auch sehr elastischen, so doch festen Zellmembran umgebenen, rotierenden Oscillatoriaceen konnte ich unter Rotation um die Längsachse stets nur Kriech- und Krümmungsbewegungen wahrnehmen. Eine aktive Flexibilität muß ich, ebenso wie Correns, Kolkwitz (1897), Migula (Engler Prandtl 1900) in Abrede stellen. Schlängelnde oder schlagende Bewegungen der Oscillatoriaceen, ein Umknicken, Zusammenknäulen, Aufwinden, Verdickungen an der Körperoberfläche, sind durch das Vorhandensein der Zellmembran unmöglich und wurden nie beobachtet.

Wenn Lagerheim 1892 als *Glaucospira agilissima* und *tenuior*

zwei blaugrüne Organismen beschreibt, welche „von einer Membran umgeben in Form von losen Spiralen mit unregelmäßigen Bewegungen unter Krümmungen, lebhaft nach allen Seiten wie eine verwundete Schlange schlagend, vermittels Geißeln im Wasser umherschwimmen“, so kann man daraus nicht auf eine nähere Verwandtschaft von Cyanophyceen und Spirochäten schließen, und nicht den Spirulinen die Fähigkeit peitschenartig schlagender Bewegungen zuschreiben (SCHELLALK 1909 p. 419); haben die betreffenden Organismen eine Membran, so sind es keine Spirochäten und haben sie Geißeln, wie LAGERHEIM annimmt, so sind es keine Spirulinen. Denn der Besitz von Geißeln schließt die Zugehörigkeit eines Organismus zu den Oscillariaceen aus. — Das Vorhandensein der Zellmembran prägt den Bewegungen der Spirulinen den Charakter auf und unterscheidet sie, ebenso wie ihr feinerer Bau, ganz wesentlich von den nackten Spirochäten.

Auf eine andere Verwandtschaft aber möchte ich hier hinweisen: auf die von *Spirulina* und *Cristispira*. Die Cristispiren haben, wie auf p. 29 u. 30 gezeigt wurde, eine morphologisch differenzierte Zellmembran. Diese ist, wie sich durch die schraubenartig auf- und zuschnellenden Bewegungen der Cristispiren erweist, elastisch; elastisch ist auch die Zellmembran der Oscillariaceen.

Diese Gemeinsamkeit scheint mir für eine systematische Verwandtschaft der beiden Gruppen zu sprechen. Die Zellmembran der Bakterien ist stets starr. Der feinere Bau der Cristispiren jedoch hat, wie oben gezeigt wurde (p. 29) mehr Ähnlichkeit mit dem der Spirillen als den Cyanophyceen. Cyanophyceen und Bakterien sind, wie wir besonders aus den Untersuchungen BÜTSCHLI's wissen, nahe verwandte Formen. welche wohl die ursprünglichsten und einfachsten bekannten Organismen darstellen. Die Cristispiren, welche die elastische Membran der Oscillatorien vereinen mit dem feineren Bau der Spirillen, von beiden Gruppen durch den Besitz der Crista getrennt, scheinen mir demnach ihre Stellung im System zwischen Spirillaceen und Oscillariaceen erhalten zu müssen. Sollte es sich ferner herausstellen, daß das bei *Oscillaria* nachgewiesene Spiralband nicht aus Schleim besteht, sondern plasmatischer Natur ist, so würde darin vielleicht eine Homologie zur Crista der Cristispiren und eine fernere Stütze für die Verwandtschaft von Cristispiren und Cyanophyceen erblickt werden dürfen.

4. Pathogene Spirochäten.

Als letzte Frage bleibt die nach den Verwandtschaftsbeziehungen der *Spirochaeta plicatilis* zu den pathogenen Spirochäten zu behandeln.

Will man den Bau von *Spirochaeta plicatilis* mit dem der pathogenen Spirochäten vergleichen, so stellen sich hier große Schwierigkeiten entgegen. Denn die Literatur über die pathogenen Spirochäten ist voll so starker Widersprüche, daß es sehr schwer ist, sich ein einheitliches Bild von diesen kleinen, offenbar sehr schwer zu untersuchenden Formen zu machen. Mir standen nur gelegentlich Präparate von *Spirochaeta pallida*, *Spirochaeta gallinarum*, *Spirochaeta obermeyeri* (= *recurrentis*) zur Verfügung.

Spirochaeta pallida scheint mir von allen pathogenen Formen die größte Ähnlichkeit mit *Spirochaeta stenostrepta* (Phot. 12, 13) aufzuweisen. *Stenostrepta* ist ein wenig dicker und enger gewunden als *pallida*. *Pallida* ist die einzige der pathogenen Formen, von der bereits Schaudinn angab, was seitdem häufig bestätigt wurde, daß sie cylindrisch, im Querschnitt kreisrund wäre und keine bandförmige Gestalt habe. wie alle anderen darauf untersuchten pathogenen Spirochäten. Die Möglichkeit „wellenförmige Bewegungen, welche über die Spirale laufen", als das Spiel einer undulierenden Membran zu deuten (Schaudinn 1905) wurde bereits besprochen. Auch wird von der echten Spiralbildung der *pallida* angegeben, daß sie eigentümlich starr und gedrechselt sei, und die typische Spirale — im Gegensatz zu anderen Formen — sowohl in der Bewegung als auch in der Ruhe zeige. Fügt man diesen Beobachtungen hinzu, daß für *Spirochaeta pallida* ein hoher Grad von aktiver Flexibilität angegeben wird, so ist tatsächlich eine starke Übereinstimmung von *Spirochaeta plicatilis* und *stenostrepta* mit *Spirochaeta pallida* zu konstatieren. Cytologische Feinheiten, wie Achsenstab oder Volutinkörner bei der $^1/_8$ μ breiten *Spirochaeta pallida* nachweisen zu wollen, dürfte bei unseren optischen Hilfsmitteln fast unmöglich sein.

Unterschiede zwischen *Spirochaeta pallida* und *plicatilis* sind außer dem Vorhandensein von fadenartigen Anhängen bei *Spirochaeta pallida*, die allerdings nicht sicher bewiesenen Angaben von Längsteilungen. Längsteilungen konnten aber niemals vom Beginn bis zur vollständigen Durchschnürung beobachtet werden. Die beschriebenen und abgebildeten Stadien können, so glaube ich, ebenso gut von aneinander geketteten, nicht vollständig durchgeführten Querteilungen herrühren, ähnlich wie ich solche von *Spirochaeta stenostrepta* beschrieb (p. 16). Betrachtet man ferner die Längenverhältnisse von *Spirochaeta pallida* (Kolle-Wassermann 1907), welche 4—10—14 μ betragen, und daß im gleichen Präparat nebeneinander kurze und lange Individuen vorkommen, so scheint diese Tatsache

sehr wohl für die Möglichkeit einer Querteilung zu sprechen. Aber wie gesagt, sind über diese Frage die Akten nicht geschlossen.

Betrachtet man dagegen die Beziehungen von *Spirochaeta plicatilis* zur *Spirochaeta obermeyeri* (*recurrentis*), so zeigen sich hier starke Gegensätze in der äußeren Form. Diese bandförmige *Spirochaeta* ist wie SCHELLACK (1907) ausführlich beschreibt, nur wellenförmig gebogen, die runden Spirochäten dagegen sind stets in echten Spiralen aufgewunden.[1]) Eine undulierende Membran konnte SCHELLACK mit Sicherheit nicht nachweisen. Er weist einwandsfrei als Fortpflanzungsweise der *Spirochaeta recurrentis* Querteilung nach, welche vermutlich auch bei anderen, ähnlich organisierten, pathogenen Spirochäten vorkommen dürfte.

Die übrigen pathogenen Spirochäten scheinen ebenfalls fast durchgängig eine bandartige und nicht cylindrische Form aufzuweisen. Wenn HOFFMANN und PROWAZEK (1906) bei *Spirochaeta gallinarum* bei den Bewegungen „den einen meist nach oben gekehrten Rand des Bandes von einer stärkeren Linie, die sich durch eine erhöhte Lichtbrechung auszeichnet", umrissen fanden; HOFFMANN und PROWAZEK (1906) bei *Spirochaeta balanitidis* „eine dichtere, stärker lichtbrechende Kontur" beobachteten; und MÜHLENS und HARTMANN (1906) bei *Spirochaeta buccalis* „an einer Körperseite stark lichtbrechende, wellenartige Bewegungen" sahen; ferner SCHAUDINN (Nachlaß) den Körper von *Spirochaeta refringens* als bandartig schildert: „Durch das Band zieht sich etwas seitlich gelagert, ein dunkler gefärbter Kernstab. Die gegenüberliegende Seite bietet das Bild eines hellen, leicht wellenartig gewundenen, undulierenden Saumes, der an beiden Seiten in geißelartige Periplastfortsätze ausläuft"; und PROWAZEK (1907) von *Spirochaeta schaudinni* berichtet, daß ihr ebenfalls bandförmiger Körper „auf der einen Seite von einer stärker brechenden Linie — der undulierenden Membran umsäumt werde"; so wird man zugeben, daß diese Beobachtungen das Vorhandensein einer undulierenden Membran bei den pathogenen Formen nicht einwandsfrei sicher stellen. Fügt man ferner hinzu, daß diese Beobachtungen sich häufig als Voraussetzung auf das SCHAUDINN'sche Schema von der undulierenden Membran der *Spirochaeta plicatilis* beziehen, *Spirochaeta plicatilis* aber sicherlich keine undulierende Membran hat; so wird man nach diesen nicht sehr präzisen Angaben, wie solche durch

[1]) Läßt man eine abgetötete *Spirochaeta plicatilis* unter dem Deckglas rotieren, so erhält man stets den Anblick der ganzen Spirale und sie erscheint nie als gerade Linie.

die großen Schwierigkeiten des Untersuchungsobjektes erklärlich sind, an dem Vorhandensein einer undulierenden Membran bei den pathogenen Formen zum mindesten zweifeln.

Die Angaben über die Kernverhältnisse sind ebenso verschiedenartige. Bei der oben citierten *Spirochaeta refringens* schildern Hartmann und Prowazek nach Photogrammen aus Schaudinn's Nachlass (1907) einen dunkel gefärbter Kernstab, welcher aber auf den Abbildungen nicht erkennbar ist. Einzelne stärker färbbare Verdichtungen im Plasma von *Spirochaeta gallinarum*, welche Prowazek (1906) beschreibt, hatte auch ich Gelegenheit, auf Präparaten zu erblicken; sie sind ganz unregelmäßig angeordnet. Von *Spirochaeta buccalis* wird berichtet — aber nicht abgebildet (Mühlens u. Hartmann 1906, Hoffmann u. Prowazek 1906) — daß sie „das Schaudinn'sche Kernschema vollständig ausgebildet“ aufwiesen.

Als Fortpflanzung wird Längsteilung, für einzelne Formen (*recurrentis*) Querteilung angegeben. Die Angaben über pathogene Spirochäten sind so widersprechend, daß es fast unmöglich ist, ein einheitliches Bild daraus zu machen. Einheitlich und durchgehend wird nur angegeben, daß die kleinen, pathogenen, zum Teil saprophytischen Spirochäten mit Ausnahme von *pallida* einen bandartigen, wellenförmig gebogenen Körper besitzen. — Cylindrisch und in echten Spiralen gewunden ist, ebenso wie *Spirochaeta plicatilis*, nur *Spirochaeta pallida*. Die für Spirochäten charakteristischen Elemente, Achsenfaden und die in den Spiralen liegenden Volutinkörner sind mit Sicherheit bei diesen Formen nirgend nachgewiesen.

Das Spirochätenstadium des Trypanosomen *Leucocytozoon ziemanni*, die verschiedenen, bandförmigen, pathogenen Spirochäten, die cylindrische *pallida* und die cylindrischen freilebenden Formen zeigen, daß Schaudinn's Bezeichnung „*Spirochaeta*“ eine Sammelgruppe verschiedenartiger Organismen enthält, welche eine oft starke äußere Ähnlichkeit aufweisen, aber keine morphologisch-systematische Bezeichnung ist. Systematisch dürfen als Spirochäten nur solche Organismen bezeichnet werden, deren Diagnose mit der des Typus der Gattung *Spirochaeta plicatilis* übereinstimmt: aktiv flexile, einzellige, nackte (d. h. membranlose), in echten Spiralen gewundene, von einem geraden Achsenfaden durchzogene Organismen mit Volutinelementen in den Plasmaspiralen. Vermehrung durch Querteilung. Abweichungen von dieser Diagnose in unwesentlichen Punkten, wie dies stets bei verschiedenen Species der gleichen Gattung der Fall ist, würden nicht gegen die Zugehörigkeit eines Organismus zur Gattung *Spirochaeta* sprechen.

Offenbar stellen die pathogenen Formen keine systematisch einheitliche Gruppe dar. *Spirochaeta pallida* dürfte die größte Ähnlichkeit mit den oben definierten Spirochäten zu haben, während andere Formen mit ihrem bandartigen Körper sich mehr dem Trypanosomentyp zu nähern scheinen.

III. Ergebnisse.

1. Systematische Stellung des Genus *Spirochaeta*.

Was die unter lebhaften Kontroversen geführte Frage nach der tierischen oder pflanzlichen Natur der Spirochäten angeht, so scheint mir die Beantwortung dieser Hypothese von geringerer Bedeutung. Wir kennen nackte und von einer Hülle umgebene Protozoen, wie wir auch unter den pflanzlichen Organismen nackte (Schwärmzellen) und von einer Hülle umgebene kennen. Protozoen können sich ebensogut längs wie quer teilen; die niederen Pflanzenzellen teilen sich quer.[1]) Die Natur hat bei diesen niederen Lebewesen offenbar keine so scharfen Grenzen gezogen wie bei den höheren.

Die stark ausgebildete aktive Flexibilität ist dasjenige Merkmal, welches am meisten für die tierische Natur der Spirochäten spricht. Derartige flexile Zellen sind sonst niemals bei pflanzlichen, häufig dagegen bei tierischen Organismen anzutreffen. Will man das wohl definierte und abgegrenzte Genus *Spirochaeta* dem System einfügen, so mußt es wohl seinen Platz zwischen Schizophyten und Flagellaten erhalten. Die Kernverhältnisse sind entfernt ähnliche wie bei Cyanophyceen und Bakterien. Die regelmäßig vorhandenen Volutinkörner haben wohl, ähnlich wie die des Zentralkörpers der Cyanophyceen und Bakterien Kernnatur, sind aber noch nicht zu einem morphologisch einheitlichem Kern differenziert; die aktive Flexibilität dagegen, welche man als dem nackten Plasma eigentümlich und durch den Mangel einer festen Membran erklären kann, ferner das Vorhandensein des elastischen Achsenstabes, wie ein solcher auch vielen Protomonadinen zukommt, scheint auf Beziehungen der Spirochäten zu primitiven Flagellatenformen, vermut-

[1]) Eine für die Flagellatennatur der Spirochäten postulierte Längsteilung ist für die systematische Zugehörigkeit zu den sich meist durch Längsteilung vermehrenden Flagellaten nicht erforderlich. Kennen wir doch bereits in *Oxyrrhis* einen typischen sich durch Querteilung vermehrenden Flagellaten.



lich den Monadinen hinzudeuten. Eine Angliederung an die Binucleaten, wie HARTMANN (1907) vorschlägt, halte ich wegen der primitiven Kernverhältnisse der Spirochäten für nicht gerechtfertigt.

2. Zusammenfassung der Ergebnisse.

I. *Spirochaeta plicatilis.*

1. *Spirochaeta plicatilis*, der Typus der Gattung *Spirochaeta*, ist ein fast anaerob lebender, mesosaprober, Schwefelwasserstoff liebender Organismus, welcher mit *Beggiatoa* zusammen in Mengen kultiviert wurde.

2. *Spirochaeta plicatilis* hat eine starke aktive Flexibilität. Das spiralig gewundene Protoplasma wird von einem graden, elastischen Achsenfaden durchzogen. In der Plasmaspirale liegen regelmäßig verteilte Volutinkörner. Das Plasma ist nackt, d. h. es wird von keiner morphologisch differenzierten Membran oder Periplasten umgeben. Die Spirochätenzelle ist cylindrisch, im Querschnitt kreisrund.

3. Die Fortpflanzungsart der *Spirochaeta* ist die Querteilung. Es wurde Zweiteilung und Vielfachteilung beobachtet.

4. Übereinstimmend im Bau mit *Spirochaeta plicatilis* und deshalb sicher dem Genus *Spirochaeta* angehörig, erweisen sich die freilebenden Formen:

Spirochaeta plicatilis EHRB.,
Spirochaeta marina n. sp.,
Spirochaeta eurystrepta n. sp.,
Spirochaeta stenostrepta n. sp.

II.

Es wurden die Beziehungen der *Spirochaeta* zu den gelegentlich als Spirochäten bezeichneten Organismen geprüft.

1. Bakterien.

Das Vorhandensein der starren Zellmembran und von Geißeln ist der charakteristische Unterschied von Spirochäten und Spirillen. Zentrale, fadenartige Anordnungen stark färbbarer Substanzen erwiesen sich stets als zentralkörperartig aus einzelnen Körnchen zusammengesetzt und zeigten kein Homologon zum einheitlichen elastischen Achsenfaden der Spirochäten.

2. Cristispiren.

Die Cristispiren sind cylindrische, im Querschnitt kreisrunde Organismen, welche von einer elastischen, doppelt konturierten Zellmembran umgeben werden. Dem Körper sitzt einseitig eine plasmatische Crista, welche von einer kontraktilen Randfibrille durchzogen wird, auf. Der feinere Bau des Weichkörpers weist Ähnlichkeit mit dem der Spirillen auf, die elastische Zellmembran erinnert an die der Cyanophyceen, welchen beiden Organismengruppen sich demnach die Cristispiren näher verwandt zeigen dürften als den nackten Spirochäten.

3. Cyanophyceen.

Es wurde die Vielzelligkeit von *Spirulina* festgestellt und nachgewiesen, daß sich auch der Bau der cylindrischen, zentral von einer Volutinkörnerreihe durchzogenen, von einer Membran umhüllten Oscillatoriacee stark von der nackten Spirochätenzelle unterscheidet, bei welcher eine einschichtig alveoläre Plasmaschicht einen elastischen Achsenfaden nicht allseitig gleichmäßig umwindet.

4. Die pathogenen Spirochäten.

Eine Übereinstimmung im Bau der pathogenen Formen und *Spirochaeta plicatilis* ist nicht sicher zu stellen. Offenbar stellen die pathogenen Formen keine einheitliche systematische Gruppe dar.

Als Spirochäten im systematischen Sinne dürfen aber nur solche Organismen bezeichnet werden, deren Bau mit *plicatilis*, als dem Typus der Gattung *Spirochaeta* übereinstimmt.

Durch die genauere Kenntnis der *Spirochaeta plicatilis*, des Typus der Gattung *Spirochaeta*, können die Charaktere der Gattung *Spirochaeta* präzise definiert werden. Eine Zugehörigkeit zu dieser Gattung darf nur solchen Organismen zugesprochen werden, welche nicht nur eine äußere Ähnlichkeit aufweisen, sondern deren Morphologie mit der für *Spirochaeta plicatilis* sicher gestellten Diagnose in den wesentlichsten Punkten übereinstimmt, wie dies für alle Species derselben Gattung gefordert werden muß.

Literaturverzeichnis.

Bütschli (1883): Protozoa. 2. Abt. Mastigophora. in: Bronn's Klassen u. Ordn. Bd. 1.
— (1890): Über den Bau der Bakterien und verwandter Organismen. Leipzig.
— (1896): Weitere Ausführungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Leipzig.
— (1902): Bemerkungen über Cyanophyceen und Bakterien. in: Arch. f. Protistenk. Jena. Bd. 1.
— (1905): Bemerkung zu der Mitteilung von F. Schaudinn über Sp. pallida. in: Deutsch. med. Wochenschr. Bd. 31.
Certes (1882): Note sur les parasites et les commensaux de l'huître. in: Bull. Soc. Zool. France. Tome 7.
— (1891a): Sur le Trypanosoma balbianii. Ibid. Tome 16.
— (1891b): Sur le Trypanosoma balbianii (Note complémentaire). Ibid. Tome 16.
Cohn (1853): Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte der mikroskopischen Algen und Pilze. in: Nov. Act. Acad. Leop. Carol. Bd. 24.
— (1867): Beiträge zur Physiologie der Phycochromaceen und Florideen. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 3.
— Untersuchungen über Bakt. II. Beiträge zur Biologie der Pflanzen, Bd. I, 3.
Doflein (1909): Lehrbuch der Protozoenkunde. Jena (Gustav Fischer).
Dobell (1911): On Cristispira veneris n. sp. and the Affinities and Classification of Spirochaets. Quart. Journ. of Microscop. Science. Vol. 56. Part. 3.
Ehrenberg (1838): Die Infusionstierchen als vollkommene Organismen.
Engler u. Prandtl (1900): Natürliche Pflanzenfamilien. I, 1a.
Fantham (1908): Spirochaeta (Trypanosoma) balbianii (Certes) and Spirochaeta anodontae (Keysselitz): their Movements, Structure, and Affinities. in: Qu. Journ. Micr. Sc. (2). Vol. 52.
— (1907): Spirochaeta (Trypanosoma) balbianii (Certes), its Movements, Structure and Affinities; and on the Occurrence of Spirochaeta anodontae (Keysselitz) in the British Mussel, Anodonta cygnea. in: Ann. Mag. Nat. Hist. (7). Vol. 19.
Fischer (1897): Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Leipzig.
Gaidukov (1902): Über den Einfluß farbigen Lichtes auf die Färbung der Oscillarien. Abh. d. Preuß. Akad. d. Wiss.
Gonder (1907): Studien über die Spirochäten aus dem Blut von Vesperugo Kuhlii. in: Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamt. Berlin. Bd. 27.
— (1908): Spirochäten aus dem Darmtraktus von Pinna: Spirochaeta pinnae nov. spec. und Spirochaeta Hartmanni nov. spec. Vorläufige Mitteilung. in: Zentralbl. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 47.
— (1909): Die Stellung der Spirochäten unter den Protisten, zugleich Beitrag zur Kenntnis der Spirochaeta pinnae. Ibid. Bd. 49.
Guilliermond (1906b): Les corpuscules métachromatiques ou grains de volutine. Bull. de l'Inst. Pasteur. Bd. 4.
— (1910): A propos des corpuscules métachromatiques ou grains de volutine. Arch. f. Protistenk. Bd. 19.



HANSGIRG, A. (1887): Physiologische u. algologische Studien. Prag.

HARTMANN, M. (1907): Das System der Protozoen. in: Arch. f. Protistenk. Bd. 10.

HERXHEIMER (1905): Zur Kenntnis der Spirochaeta pallida. in: Münchn. Med. Wochenschr. Jahrg. 52.

HOEFER (1909): Einige Beobachtungen an Spirochaeta recurrentis (Obermeyeri). Bemerkungen zu der Arbeit von Dr. RICHARD GONDER: Die Stellung der der Spirochäten unter den Protisten. in: Zentralbl. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 50.

HOFFMANN, E. (1906): Die Ätiologie der Syphilis. Berlin.

HOFFMANN, E. u. S. v. PROWAZEK (1906): Untersuchungen über die Balanitis- und Mundspirochäten. in: Zentralbl. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 41.

HÖLLING (1907): Spirillum giganteum und Spirochaeta balbianii. Ibid. Bd. 44.

KOCH (1906): Über afrikanischen Recurrens. in: Berl. klin. Wochenschr. Jahrg. 43.

KOLKWITZ (1896): Über die Krümmungen bei den Oscillariaceen. Ber. d. Deutsch. bot. Gesellsch. Bd. 14 Heft 10.

— (1897): Über die Krümmungen und den Membranbau bei einigen Spaltalgen. Ber. d. Deutsch. bot. Gesellsch. Bd. 15 Heft 8.

KOLKWITZ u. M. MARSSON, Ökologie der pflanzlichen Saprobien. Ber. d. Deutsch. bot. Gesellsch. Bd. 26a, Heft 7.

— — (1910): Zur Biologie der Wilmersdorfer Kläranlage bei Stahnsdorf. in: Mitt. a. d. königl. Prüfungsanstalt f. Wasserversorgung u. Abwässerungsbes. Heft 13.

KOLTZOFF (1908): Studien über die Gestalt der Zelle. in: Arch. f. Zellforschung. 2. Bd. 1. Heft.

KOLLE-WASSERMANN (1907): Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Erster Ergänzungsband. SOBERNHEIM: Spirillosen.

KEYSSELITZ (1906): Beschreibung von Spir. anodontae. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte. Bd. 23.

— (1907): Über die undulierende Membran der Trypanosomen und Spirochäten. Arch. f. Protistenk. Bd. 10.

KRYSTALOWICZ u. SIEDLECKI (1905): Contribution à l'étude de Spir. pallida. Bull. Ac. Sc. Cracovie.

— — (1908): Étude expér. de la syphilis; morphologie de Spir. pallida. Ibid.

LAGERHEIM (1892): Notiz über phycochromhaltige Spirochäten. Ber. d. Deutsch. bot. Gesellsch. Bd. 10.

LAUTERBORN (1901): Die „sapropelische" Lebewelt. in: Zool. Anzeiger. Bd. 24 Nr. 635.

LAVERAN, A. u. F. MESNIL (1901): Sur la nature bactérienne du pretendu Trypanosome des Huitres. in: C. R. Soc. Biol. Paris. Tome 53.

MANTEUFEL (1907): Experimentelle Beiträge zur Kenntnis der Recurrensspirochäten und ihrer Immunsera. in: Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt. Berlin. Bd. 27.

MEYER, A. (1904): Orientierende Untersuchungen über Verbreitung, Morphologie und Chemie des Volutins. Bot. Ztg.

MINCHIN (1909): The Structure of Trypanosoma lewisi in Relation to Microscopical Technique. in: Qu. Journ. Micr. Sc. (2). Vol. 53.

MÜHLENS u. HARTMANN: Über Bacillus fusiformis und Spir. dentium. Zeitschrift f. Hygiene u. Infektionskrankheiten. Bd. 55.



Müller, A. (1907): Allgemeine Chemie der Kolloide. Leipzig.

Neufeld, F. u. S. v. Prowazek (1907): Über die Immunitätserscheinungen bei der Spirochätenseptikämie der Hühner und über die Frage der Zugehörigkeit der Spirochäten zu den Protozoen. in: Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt. Berlin. Bd. 25.

Perrin (1905): A. Preliminary Communication on the Life-History of Trypanosoma balbianii. in: Proc. R. Soc. London. Vol. 76.

— (1906): Researches on the Structure and Life-History of Trypanosoma balbianii (Certes). in: Arch. f. Protistenk. Bd. 7.

Prowazek (1905): Studien über Säugetiertrypanosomen. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte. Bd. 22.

— (1906): Morphologische und entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen über Hühnerspirochäten. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte. Bd. 23.

— (1907): Vergleichende Spirochätenuntersuchungen. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte. Bd. 26.

— (1908): Bemerkungen zur Spirochäten- und Vaccinefrage. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 46.

Reichenow (1909): Untersuchungen an Haematococcus pluvialis nebst Bemerkungen über andere Flagellaten. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte. Bd. 33.

— (1910) Haemogregarina stepanowi. Arch. f. Protistenk. Bd. 20.

Schaudinn (1904): Generations- und Wirtswechsel von Trypanosoma noctuae und Spirochaeta Ziemanni. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte. Bd. 20.

— (1905): Zur Kenntnis der Spirochaeta pallida. Deutsch. med. Wochenschr. Bd. 31.

— (1906): Erwiderung auf Bütschri's Bemerkung. Deutsch. med. Wochenschr., Jahrgang 32 Nr. 2.

— (1907): Zur Kenntnis der Spirochaeta pallida und anderer Spirochäten. Arb. a. d. kais.Gesundheitsamte. Bd. 26. Aus dem Nachlaß von Schaudinn, herausgegeben von Hartmann u. Prowazek.

Schaudinn u. Hoffmann (1905): Über Spirochaeta pallida und die Unterschiede dieser Form gegenüber anderen Arten dieser Gattung. Berl. klin. Wochenschr.

Schellack (1907): Morphologische Beiträge zur Kenntnis der Rekurrensspirochäten. Arb. a. d kais. Gesundheitsamte. Bd. 27 Heft 2.

— (1909): Studien zur Morphologie und Systematik der Spirochäten aus Muscheln. Ibid. Bd. 30.

Schuberg (1905): Über Cilien und Trichocysten einiger Infusorien. Arch. f. Protistenk. Bd. 6.

Swellengrebel (1908): La volutine chez les Trypanosomes. C. R. de la Soc. de biol. Paris. Bd. 64.

Vuillemin, P. (1905): Sur la dénomination de l'agent présumé de la syphilis. in: C. R. Acad. Sc. Paris. Tome 140.

Warming (1875): Om nogle ved Danmarks Kyster levende Bakterier. in: Videnskabl Meddel. Naturh. Foren. Kjöbenhavn.

Woodcock (1906): The Haemoflagellates. Quart. Journ. of micr. Scienc. Vol. 50.

Zacharias (1909): Die chemische Beschaffenheit von Protoplasma und Zellkern. Progressus Rei Botanicae. Bd. 3 Heft 1.

Zettnow (1906): Färbung und Teilung bei Spirochäten. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankheiten. Bd. 52.

— (1906): Geißeln bei Rekurrens- und Hühnerspirochäten. Deutsch. med. Wochenschrift 1906.



ZETTNOW (1908): Über SWELLENGREBEL's Volutinbänder in Spirillum volutans. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 46.

ZUELZER (1904): Beiträge zur Kenntnis von Difflugia urceolata CARTER. Arch. f. Protistenk. Bd. 4.

— (1908): Zur Kenntnis der biologischen Wasserbeurteilung. in: Internat. Revue d. ges. Hydrographie u. Hydrobiologie. Bd. 1.

— (1909): Beitrag zur Kenntnis der Entwicklung von Psychoda sexpunctata CURTIS der Schmetterlingsmücke. in: Mitt. a. d. kgl. Prüfungsanstalt f. Wasserversorg. u. Abwässerbeseitigung. Heft 12.

— (1910): Über Spirochaeta plicatilis und Spirulina. Zoolog. Anzeiger. Bd. 35. Nr. 24 u. 25.

Tafelerklärung.

Tafel 1.

Die Mikrophotogramme wurden mit Benutzung des ZEISS'schen Mikroskops, mit dem großen ZEISS'schen wagerechten Apparat bei Beleuchtung mit einer elektrischen Bogenlampe aufgenommen. Die Photogramme sind gänzlich unretouschiert. Alle Aufnahmen wurden mit ZEISS homog. Immers. 2 mm 130 gemacht und, wo nichts anderes bemerkt ist, mit Pr. Oc. 2. Es ist stets die lineare Vergrößerung angegeben.

Fig. 1. Teilstück einer *Spirochaeta plicatilis*. Warmer Sublimat-Alkohol-Essig. Eisenhämatoxylin. Gerader Verlauf des Achsenfadens, teilweis wabige Struktur des Plasmas erkennbar. Die Volutinkörner sind nur an einigen Stellen andeutungsweise zu sehen. Vergr. ca. 1500.

Fig. 2. Teilstück von *Spiroehaeta plicatilis*. Sublimatalkohol-Eisenhämatoxylin, so stark differenziert, daß nur der Achsenfaden gefärbt blieb. Nachfärbung mit Hämalaun, welches die Volutinkörner rötlich färbte; danach Eosin als Plasmafarbe. Es ist der Achsenfaden in seinem geraden Verlauf und die Volutinelemente in der Plasmaspirale erkennbar. Vergr. 1100.

Fig. 3. Ebenso. Vergr. 1240.

Fig. 4. Ebenso. Vergr. 2000. Pr. Oc. 4.[1])

Fig. 5. Ende einer *Spirochaeta plicatilis*. Sublimat-Alkohol-Eisenhämatoxylin-Hämalaun-Eosin. Gerader Verlauf des Achsenfadens, welcher am Ende in ein Endkorn ausläuft. Volutinkörner. Vergr. 1100.

Fig. 6. *Spirochaeta plicatilis*. Osmiumdampf-Eisenhämatoxylin, an zwei Stellen zopfartig aufgewickelt.

Fig. 7. Zwei *Spirochaeta plicatilis*. Jodalkohol-Eisenhämatoxylin; die linke ihrer ganzen Länge nach zopfartig aufgewickelt; rechts einfach, zeigt Achsenfaden, Plasmastrukturen.

Fig. 8. *Spirochaeta eurystrepta*. Sublimatalkohol-Hämalaun. Der Achsenfaden ist schwach, die Körner scharf gefärbt. Um die Volutinkörner so scharf dar-

[1]) Ich bin Herrn Prof. SCHEFFER für seine freundliche Hilfe bei der Aufnahme von Phot. 4 zu Dank verpflichtet.



stellen zu können, ist es vorteilhaft, den Spirochätenkörper schwach gefärbt zu lassen, weil die Körner sonst nicht so stark hervortreten würden. An der mit einem Pfeil bezeichneten Stelle befindet sich ein Volutinkorn in Teilung. Pr. Oc. 4. Vergr. ca. 2000.

Fig. 9. *Spirochaeta eurystrepta.* Dieses Exemplar hatte sich während der Beobachtung zopfartig verschlungen, wurde durch Zusatz von Jodalkohol abgetötet und mit Hämalaun gefärbt; Volutinkörner. Pr. Oc. 4. Vergr. ca. 2000.

Fig. 10. *Spirochaeta eurystrepta.* Pikrinessigsäure, Hämalaun. Das Endkorn des Achsenfadens ist am oberen Ende, wenn auch nicht sehr scharf, erkennbar. Volutinkörner. Pr. Oc. 4. Vergr. ca. 2000.

Fig. 11. Pikrinessigsäure-Delaf. Hämatoxylin. Links *Spirochaeta plicatilis* rechts *eurystrepta.* Vergr. 1100.

Fig. 12. *Spirochaeta stenostrepta.* Pikrinessigsäure-Eisenhämatoxylin. Vergrößerung 1100.

Fig. 13. Unten *Spirochaeta stenostrepta* und oben *Spirochaeta eurystrepta.* Sublimatalkohol-Eisenhämatoxylin. Vergr. ca. 1500.

Fig. 14a u. b. *Spirochaeta marina.* Pikrinessigsäure - Eisenhämatoxylin. Achsenfaden. Plasmastrukturen; einige Volutinkörner sind erkennbar.

Tafel 2.

Fig. 15. *Cristispira balbiani* C. Flemming-Eisenhämatoxylin. Vergr. 1100. Kammerung des Körpers, Polkappen, Crista.

Fig. 16a und b. *Cristispira pectinis* G. a) Sublimat, b) Flemming; Eisenhämatoxylin. Vergr. 1100. Kammerung des Körpers, Verlauf der Crista.

Fig. 17. *Cristispira tapetos* S. Flemming, Eisenhämatoxylin. Vergr. 1100. Nur das obere Ende ist scharf und zeigt die Kammerung des Körpers und den Verlauf der Crista.

Fig. 18. *Cristispira veneris* n. sp. Pikrinessigsäure, Eisenhämatoxylin. Vergr. 1100. Kammerung des Körpers, Crista.

Fig. 19a und b. Marine Spirillaceen (Sp. ?). Flemming, Eisenhämatoxylin. Vergr. 1240. Fadenartige Anordnung einer zentralen Körnerreihe, welche bei b mehrfach unterbrochen ist.

Fig. 20. *Spirulina albida* K. Sublimatalkohol, Delaf. Hämatoxylin. Vergrößerung 1100.

Fig. 21. *Spirulina tenuissima* K. Jodalkohol, Delaf. Hämatoxylin. Vergr. 1100. Verlauf der zentralen Körnerreihe.

Fig. 22. *Spirulina versicolor* C. Jodalkohol, Delaf. Hämatoxylin. Pr. Oc. 4. Vergr. ca. 2000. Tiefe Einstellung, um den Verlauf der zentralen Körnerreihe zur Anschauung zu bringen. Daher sind die äußeren Konturen des spiralig gewundenen, nicht in einer Ebene liegenden Organismus nur schattenhaft erkennbar.

Fig. 23. Jodalkohol, Delaf. Hämatoxylin. Pr. Oc. 4. Vergr. ca. 2000. Ungleichmäßige Ausbildung der zentralen Körner; einzeln liegende große Volutinkugeln.

Fig. 24a und b. *Arthrospira jenneri* Stbg. Jodalkohol - Eisenhämatoxylin. Vergr. 750. Verlauf des Zentralkörpers und dessen Volutinkörner. Fig. 24b läßt an der mit einem Pfeil bezeichneten Stelle eine Querwand und dieser anliegende feine Körner erkennen.



Tafel 3. (Schema.)

Fig. 1. *Trypanosoma.* a) Optischer Längsschnitt; b) im Querschnitt. Der Achsenfaden der undulierenden Membran ist blau, der Kern rot gezeichnet. Der Randfaden begrenzt die undulierende Membran außen, wie dies besonders am Querschnitt zu sehen ist, wo die Geißel quer getroffen an der äußersten Spitze der undulierenden Membran als blauer Punkt zu sehen ist.

Fig. 2. *Cristispira.* a) Optischer Längsschnitt, b) im Querschnitt. Der Cristispirenkörper wird von einer doppelt konturierten Membran umgeben (blau). Ihm sitzt einseitig die plasmatische Crista auf (schwarz). Die Crista wird außen von einer feinen Fibrille durchzogen. Dieselbe ist im Querschnitt an der äußersten Partie der (schwarzen) Crista als blaues Pünktchen eingezeichnet, die chromatischen Kammerwände sind rot.

Fig. 3. *Spirochaeta.* a) Optischer Längsschnitt. Die spiralig gedrehte *Spirochaeta* wird von einem Achsenfaden (blau) durchzogen. In den Plasmaspiralen liegen die Volutinelemente (rot). b) Einzelne Windung stärker vergrößert. In diese stärker vergrößerte Windung sind verschiedene mögliche Querschnitte eingezeichnet. Der Querschnitt zeigt, daß der Achsenfaden nicht allseitig gleichmäßig vom Plasma umgeben wird. c) Querschnitt einer *Spirochaeta.* Der Achsenfaden ist als blauer Punkt eingezeichnet.

Fig. 4. *Spirulina.* a) Optischer Längsschnitt. Die spiralig gedrehte *Spirulina* wird von einer festen Zellmembran umgeben (blau) und zentral von einer dichtgedrängten Reihe von Volutinkörnern (rot) durchzogen. Im Querschnitt b zeigt zentral der rote Punkt die Lager dieser Körnerreihe an.

Fig. 5. Schema einer *Spirochaeta plicatilis* nach SCHAUDINN.

Tafel 4.

Die Figuren wurden mit einem ZEISS'schen Mikroskop und dem ABBÉ'schen Zeichenapparat auf Objekttischhöhe entworfen. Fig. 1—22 sind nach Präparaten, welche in Cedernholzöl eingeschlossen waren, Fig. 23 ist nach dem lebenden Objekt angefertigt.

Fig. 1—12. Teilstücke von *Spirochaeta plicatilis*; Apochrom. Imm. 2 mm, 130 Comp. Oc. 12.

Fig. 1. Sublimatalkohol, Eisenhämatoxylin. Ende einer langen *Spirochaeta* bei hoher Einstellung. Bei dieser Einstellung ist zu erkennen, wie das einschichtig alveolare Plasma den Achsenfaden schraubig umwindet.

Fig. 2—12. Optischer Längsschnitt von *Spirochaeta plicatilis.*

Fig. 2. FLEMMING'sche Lösung, Hämalaun, Eosin. Die Volutinkörner (roten Körner) sind scharf gefärbt und lassen ihre Lage im Plasma erkennen. Achsenfaden.

Fig. 3. Kalter Sublimatalkohol. Eisenhämatoxylin so stark entfärbt, daß nur der Achsenfaden gefärbt war. Nachfärbung mit Hämalaun, welches die Körner rot färbt, Eosin; gerader Verlauf des Achsenfadens. Anordnung und Lage der Volutinkörner im einschichtig alveolären Plasma.

Fig. 4—12. Sublimatalkohol, Eisenhämatoxylin-Eosin. Es wurde nicht genug differenziert, um die roten Körner, welche bei schwacher Färbung klarer hervortreten, gut erkennen zu lassen; denn es sollte an diesen Präparaten der Achsenfaden möglichst stark gefärbt werden, um seinen Verlauf zu verfolgen.

Fig. 6. Spitzes Ende einer *Spirochaeta*, gerader Verlauf des Achsenfadens, mit Endkorn.



Fig. 7. Beide Enden einer *Spirochaeta*, gerader Verlauf des Achsenfadens, am linken Ende ohne, am rechten mit Endkorn.

Fig. 8. Beide Enden einer *Spirochaeta*, gerader Verlauf des Achsenfadens, rechts zugespitzt und mit, links lappig und ohne Endkorn.

Fig. 9. Beide lappigen Enden einer *Spirochaeta*, rechts mit Endkorn; gerader Verlauf des Achsenfadens.

Fig. 10. Beide zugespitzten Enden einer *Spirochaeta*; gerader Verlauf des Achsenfadens. Beide Enden mit Endkorn.

Fig. 11—12. Zweiteilung einer *Spirochaeta*.

Fig. 11. In der Körpermitte geteiltes Endkorn des Achsenfadens.

Fig. 12. *Spirochaeta* durchgeschnürt. Die beiden Tochterspirochäten hängen nur noch durch die centrodesmoseartige Verbindung der beiden Endkörner miteinander verbunden.

Fig. 13. *Cristispira veneris*. Flemming, Eisenhämatoxylin, Imm. 2 mm 1,30 Comp. Oc. 12. Mittlere Körperpartie mit der spitzigen Verdickung der mittleren Kammerquerwand. An dieser Stelle findet die Querteilung der *Cristispira* statt.

Fig. 14—15. Marine Spirillacee. Flemming, Eisenhämatoxylin. Imm. 2 mm 1,30 Comp. Oc. 12. Klümpchenartige Anordnung chromatischer Elemente an den Enden, Fig. 14 eine solche Anhäufung auch in der Körpermitte. Fadenartige Anordnung einer feinen Körnerreihe, welche zentral den ganzen Organismus durchzieht.

Fig. 16. Teilstück eines *Beggiatoa*-Fadens. Sublimatalkohol, Hämalaun. Imm. 2 mm 1,30 Comp. Oc. 12. Fadenartiger Zentralkörper als zentrale Körnerreihe angeordnet.

Fig. 17. Habitusbild eines Fadens von *Spirulina versicolor* nach dem Leben. Imm. 2 mm Comp. Oc. 6.

Fig. 18—20. *Spirulina versicolor* C. Jodalkohol, Eisenhämatoxylin, Eosin Imm. 1,30 Comp. Oc. 12.

Fig. 18. Normal ausgebildete Körnerreihe.

Fig. 19. *Spirulina*, welche 8 Wochen im Halbdunkel gezogen war, mit geringerer Anzahl Körner.

Fig. 20. *Spirulina* aus dem Stammaquarium mit unter sich ungleich großen Körnern.

Fig. 21. *Arthrospira jenneri*. Jodalkohol, Delafield'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm 1,30 Comp. Oc. 8. Zentralkörper mit seinen zahlreichen, ungleich großen Volutinelementen, Querwände.

Fig. 22. *Arthrospira jenneri*. Jodalkohol, Eisenhämatoxylin. Querwände mit den diesen anliegenden Volutinkörnern. Imm. 2 mm 1,30 Comp. Oc. 8.

Fig. 23. Lebende *Oscillatoria* (*limosa?*). Imm. 2 mm Comp. Oc. 6. Vergr. ca. 750. Spiralband mit feinen Tuschepartikelchen.

Fig. 24, 25. *Oscillatoria* (*limosa?*). Jodalkohol, Delafield'sches Hämatoxylin, schwach angesäuert. Imm. 1,30 Comp. Oc. 12. Vergr. 1500.

Fig. 24. *Oscillatoria*, welche 3 Wochen in Molisch's Nährlösung gezüchtet worden war. Kleine Zellen, welche sich häufig teilen; Zentralkörper blau, Volutinelemente rot, Rindenschicht grau.

Fig. 25. *Oscillatoria* aus phosphorfreier Nährlösung. Zellen groß, sich langsam teilend. Rote Volutinelemente im blauen Zentralkörper sehr spärlich.

De l'Istituto d'Igiene sperimentale della Università di Roma.
(Directeur le Prof. A. Celli.)

Contribution à l'étude de l'Achromaticus vesperuginis (Dionisi).

Par

W. L. Yakimoff, **W. J. Stolnikoff** et **Nina Kohl-Yakimoff**
(St. Pétersbourg) (Tourkestan) (St. Pétersbourg).

(Avec Planches 5—7.)

I.

En 1898, A. Dionisi a constaté dans le sang des chauves-souris trois espèces de parasites endoglobulaires dont deux, *Polychromophilus murinus* et *Polichromophilus melaniferus*, produisaient un pigment, mais la troisième espèce, *Achromaticus vesperuginis*, n'avais pas cette propriété.

Cette dernière espèce, après Dionisi, a été observée successivement par Berestneff (1903), Galli-Valerio (1904), Kisskalt (1906), Gonder (1906) et Neumann (1909).

La nature de ce parasite et sa place parmi les hématozoaires ne sont pas jusqu'a présent définies.

D'après Dionisi, entre l'*Achromaticus vesperuginis* et le parasite de la fièvre estivo-automnale de l'homme, il y aurait de multiples ressemblances quant à la structure, l'évolution la marche de l'infection. Cependant ces deux parasites se distinguent nettement par leurs formes de multiplication. De plus, l'*Achromaticus vesperuginis* ne serait pas susceptible d'infecter l'homme et de se transmettre aux Anophèles (*Anopheles claviger*), transmetteurs de la malaria.

Berestneff, d'après ses études concernant le sang vivant envahi par ces parasites qui se présentent sous forme d'anneaux réfringents doués de mouvements ameboïdes, est d'avis qu'ils se distinguent essentiellement des formes en anneau du *Plasmodium praecox* et des autres parasites de la malaria qui ne sont pas reconnaissables, ainsi qu'on le sait, sur des préparations du sang vivant.

Galli-Valerio s'exprime de la sorte à ce sujet: „Ces parasites qui se rapprochaient beaucoup de *H. praecox* de l'homme, doivent certainement être rattachés à *Achromaticus vesperuginis* Dionisi."

Kisskalt après avoir observé dans le sang du même individu les parasites en anneau et les trypanosomes conclut qu'il pourrait exister les deux formes du même parasite chez le même animal. Cependant, des recherches plus minutieuses du sang prélevé pendant la nuit et le jour, au moyen du microscope muni de la platine chauffante, ne lui ont pas donné le droit d'affirmer la parenté de ces deux hématozoaires, car il n'a pu observer de nouvelles formes.

Gonder ayant observé des formes rappelant celles du piroplasma prétend qu'il faudrait placer l'*Achromaticus vesperuginis* entre les parasites de la malaria et ceux du piroplasma.

Neumann ne se prononce pas d'une façon concluante. Après avoir observé dans le sang de la chauve-souris, *Pteropus vespertilionis*, des parasites à flagelles dont quelques-uns rappelaient les parasites se trouvant chez le *Conorrhinus*, transmetteur du brasilien *Trypanosoma cruzi*, il dit: „Überblicken wir noch einmal alle die gefundenen Parasiten, so hat man den Eindruck, daß diese Organismen alle dem Typus der Trypanosomen am nächsten zu stehen scheinen und *Achromaticus vesperuginis* in diesen Entwicklungscyklus gehört, vorausgesetzt, daß im Fledermausblut keine anderen Parasiten außer den von mir gefundenen vorhanden waren."

Néanmoins, il avoue plus loin qu'il a rencontré trois parasites très semblables à quelques-unes des formes d'évolution du *Piroplasma canis*, d'après Breinl et Hindle qu'il a réproduites dans les figures de son mémoire.

Doflein, dans la dernière édition de son livre, place l'*Achromaticus vesperuginis* dans le sous-ordre des *Haemosporidia* appertenant à la famille des *Plasmodidae* qui comprend: 1. *Proteosoma*, 2. *Plasmodium*, 3. *Laverania*, 4. *Achromaticus* (l'*Achromaticus vesperuginis*), 5. *Polychromatophilus* et 6. *Haemocystidium*. Il s'exprime ainsi au sujet de l'*Achromaticus*:

„Diese Form scheint in manchen Beziehungen einen Übergang zwischen Babesien und Plasmodien herzustellen."

D'après ce qui précède il n'ya rien d'étonnant que les auteurs ne pouvant résoudre la question en laissent le soin aux recherches ultérieures.

A l'heure actuelle, on peut seulement tirer les conclusions suivantes: 1. *Achromaticus vesperuginis* n'est pas identique au parasite de la fièvre estivo-automnale de l'homme. 2. Il est possible qu'il ait beaucoup de points communs avec les piroplasmes ou les trypanosomes et 3. Il est possible que sa place soit entre le parasite de la fièvre estivo-automnale de l'homme et les piroplasmes ou les trypanosomes.

La difficulté de trancher cette question est d'autant plus grande que les auteurs précités ont observé ce parasite chez les diverses espèces de chauves-souris. Ainsi Dionisi, Berestneff, Galli-Valerio et Neumann l'ont rencontré chez le *Vesperugo noctula*, Kisskalt — chez le *Vesperugo pipistrellus* et Gonder — chez le *Vesperugo kuhli*. Par conséquent, l'opinion de Gonder est très justifiée quand il dit que seulement la détermination du cycle complet d'évolution de ces parasites peut faire decider si tous les parasites observés par les divers auteurs appartiennent à une même espèce.

II.

En 1908, l'un de nous a préparé un frottis du sang d'une chauve-souris à Tourkestan dont l'espèce, malheureusement, n'a pas été déterminée.

Sur le frottis se trouvaient les parasites endoglobulaires et extraglobulaires. Quelques-unes des formes de l'*Achromaticus vesperuginis* étaient tout à fait differentes de celles observées par les auteurs précités.

Il nous semble que, grâce à la découverte de ces formes, nous ne sommes pas loins de la détermination de la nature et de la place dans la classification de l'*Achromaticus vesperuginis*.

Les formes des parasites chez notre chauve-souris étaient très diverses. La majorité se trouvaient à l'intérieur des hématies. On ne pouvait observer que très rarement des parasites libres nageant dans le plasma.

Ces derniers se présentaient sous la forme oblongue, arrondie ou falciforme. Cette dernière forme prévalait sur les deux premières.

Les parasites oblongs (pl. 5 fig. 1) sont pyriformes, inflechis; ils ont une extrémité epaisse et l'autre amincie en pointe. Le proto-

plasma n'est pas compact et se colore en bleu. A l'extremité amincie se trouve le noyau chromatique.

L'autre genre des parasites libres (pl. 5 fig. 4) ressemble à ceux qu'a observé Neumann. Par sa forme ils rappellent les parasites du *Kala-azar*, du bouton d'orient et de la splenomegalie infantile, mais ils se distinguent des derniers par l'absence du centrosome que Neumann a observé sur ses préparations de *l'Achrommaticus vesperuginis.* La coloration du protoplasma et du noyau est très intense.

En autre, nous avons rencontré des parasites libres à forme de triangle (pl. 5 fig. 2 et 3). Leur protoplasma se colorait en bleu tantôt intensivement, tantôt faiblement. Dans chacun se trouvait un noyau dans lequel on a parfois observé un nucleole se colorant plus intensivement en rouge. Le noyau était entouré d'une zone claire.

Une seule fois nous avons observé une forme de parasite arrondi (pl. 5 fig. 5) avec un prolongement piriforme à une extrémité. Le protoplasma se colorait faiblement et présentait un petit amas chromatique.

Nous plaçons ci-dessous parmi les parasites endoglobulaires la description des parasites falciformes qui sont libres ou endoglobulaires.

Nous distinguons parmi ces derniers des formes: 1. falciformes 2. rondes, 3. ameboïdes, 4. piriformes, 5. semilunaires et 6. rappelant Bandformen.

Les parasites falciformes en majeure partie extracellulaires se présentent sous une forme incurvée à bouts pointus (pl. 5 fig. 1, 6 et 6—9). Quelques-uns (pl. 5 fig. 7) ont une extremité renflée. Leur protoplasma est bleu uniforme. A leur milieu se trouve un noyau dans lequel on peut distinguer des corpuscules nucléolaires situés dans la chromatine parfois réunis entre eux par un fil fin (peut-être, la division? pl. 5 fig. 8). Gonder fais aussi mention de pareilles formes. Quelques exemplaires (pl. 5 fig. 7) sont pourvus de deux amas chromatiques: l'un, au milieu, se colorant plus clairement, l'autre, à l'extrémité plus volumineuse, plus intensivement. Ces formes de parasites sont dispersées sur la peripherie des hématies. Nous avons observé une fois huit parasites dont quatre á l'intérieur et quatre autres à l'extérieur d'üne hématie (pl. 5 fig. 6). Les dimensions de ces parasites sont variables. Les parasites de petites dimensions (2,13—2,48 $\mu \times 0,47\ \mu$ et encore moindres) (pl. 5 fig. 6) qui sont en majorité ne sont visibles qu'à un fort grossissement à cause de leur

petitesse, de leur structure délicate et de la faible coloration que prend leur protoplasma. Les parasites de dimensions moyennes (pl. 5 fig. 7 et pl. 7 fig. 54 en bas) sont de 4,26 μ de longueur sur 0,35 μ de largeur. Les parasites de grandes dimensions (pl. 5 fig. 8 et 9) qui sont très rares ont leurs dimensions égales à la moitié ou les deux tiers de l'hématie.

Plus fréquement encore que les parasites falciformes on observe des parasites à forme arrondie (pl. 5 fig. 10—24; pl. 6 fig. 25 — 28) dont les dimensions atteignent alors de 1,42 $\mu \times 2,84$ μ. Il ne se trouve dans une hématie qu'un ou deux de ces parasites et rarement nous avons rencontré trois parasites dans une hématie. Leur protoplasma se colore en bleu et renferme un ou plusieurs noyaux, à l'intérieur desquels on perçoit très souvent des nucléoles plus foncés. La forme des noyaux est très variable. Parfois ils présentent l'aspect d'une masse compacte ronde (pl. 5 fig. 10, 11 et 23; pl. 6 fig. 25); parfois de la partie plus foncée du noyau (nucléole) partent des prolongements moins colorés (pl. 5 fig. 12); dans quelques parasites le noyau est situé sur la péripherie sous forme d'une masse compacte (pl. 5 fig. 18) ou allongée (pl. 5 fig. 19 à gauche); parfois deux nucléoles sont liées entre elles par des prolongements qui s'unissent soit directement (pl. 5 fig. 22 à droite en bas), soit en constituant une sorte d'arc (pl. 5 fig. 21 et 24), soit encore enformant un triagle (pl. 5 fig. 22 à droite en haut).

On observe parfois à l'intérieur du noyau un cercle ou une couronne dans lesquels on perçoit au milieu de la chromatine un (pl. 5 fig. 13) ou plusieurs grains (pl. 5 fig. 14) colorés plus intensivement.

Lorsque les parasites de forme arrondie renferment plusieurs noyaux ces derniers se présentent sous une forme plus ou moins arrondie et sont constitués par de la chromatine claire dans laquelle sont placés un ou deux corpuscules nucléolaires (pl. 5 fig. 16).

Quelquefois, il existe deux masses chromatiques arquées contenant chacune deux corpuscules nucléolaires colorés très intensivement et liés entre eux par des prolongements moins colorés (pl. 5 fig. 21).

On rencontre parfois, mais plus rarement, quatre noyaux (pl. 6 fig. 30), mais ce cas ne s'observe la plupart du temps que lorsque la forme des parasites n'est pas arrondie.

Enfin, on rencontre aussi des combinaisons de ces différentes formes de noyaux (pl. 5 fig. 17 et 20; pl. 6 fig. 29).

Nous tenterons d'expliquer ultérieurement la signification de

toutes ces formes de noyaux pour ce qui concerne le développement du parasite.

Les parasites qui ont perdu la forme ronde, sont pourvus de prolongements plus ou moins longs et au nombre de 1 à 4. Toujours ils sont munis de quatre noyaux renfermant un ou deux corpuscules nucléolaires. Nous les appelons les ameboïdes (pl. 6 fig. 31—33). Dans leur protoplasma coloré en bleu qui n'est pas compact, on aperçoit la division nette en quatre fragments. Les dimensions de ces formes sont de 1,42—2,13 μ et avec les prolongements de 4,26 μ.

Le parasite figuré sur le dessin No. 28 dans le travail de DIONISI et sur celui No. 23 de GONDER rappelle les formes décrites ci-dessus.

Nous distinguons deux espèces de parasites piriformes a) les petits et b) les gros.

Le petits parasites piriformes étaient nombreux sur notre préparation. Dans certaines hématies, leur nombre était toujours de quatre (pl. 6 fig. 34—37) et seulement une seule fois nous avons observé dans une hématie huit parasites de forme irrégulière (pl. 6 fig. 39). Les parasites sont disposés en éventail dont les extremités minces sont liées par le reste du protoplasma (pl. 6 fig. 34) ou en éventail libre (pl. 6 fig. 36); parfois ils se présentant sous forme d'une croix plus ou moins régulière (pl. 6, fig. 36 et 37).

Le noyau des parasites susdits est toujours situé à la grosse extremité où il forme une sorte de capuchon. Si le noyau est bien coloré on peut voir à l'intérieur des corpuscules nucléolaires qui sont en général au nombre de deux. Les dimensions de ces petits parasites piriformes sont presque toujours les mêmes (1,42 μ). Hors des hématies ces parasites n'ont pas été constatés. GONDER a observé les mêmes formes de parasites, mais de dimensions plus grosses (2—3 μ) et à noyau situé ou à l'extrémité comme chez les notres ou au milieu du parasite. Cette différence n'est pas d'une grande importance et dépend peut-être de l'âge du parasite.

L'auteur précité distingue encore parmi ces formes les sexes, selon leur structure, mais nous ne pouvons pas, malheureusement, à cause de la coloration dont nous nous sommes servis, le suivre dans cette voie.

GONDER rappele ensuite que DIONISI rencontrait des formes pareilles libres dans le sang. Mais il nous paraît que le parasite piriforme se trouvant sur le dessin No. 31 de DIONISI se rapporte plutôt à celui que nous décrivons sous le titre de gros parasites piriformes.

Nous classons les parasites figurés sur les dessins pl. 6 fig. 39 et 41 parmi les parasites décrits ci-dessus bien qu'ils soient privés de la forme régulière de ceux-ci: ils sont plus arrondis et leur noyau est situé la plupart du temps au milieu. Ces formes sont voisines de celles de Gonder.

On rencontre, très rarement, une autre espèce de petits parasites piriformes (pl. 6 fig. 42). Leurs dimensions sont deux fois moindres que celles des parasites décrits ci-dessus. Le noyau, pour la plupart, est situé à la grosse extremité. Une hématie en renferme quatre.

Il nous est impossible d'identifier ces formes de notre parasite avec celles qui sont figurées sur les dessins 4 et 5 de Gonder, parceque leur masse chromatique est situé à l'extrémité amincie et non pas à l'extrémité en massue comme c'est le cas chez Gonder.

Les hématies renferment soit un soit deux des gros parasites piriformes (pl. 6 fig. 43—47; pl. 7 fig. 48—58).

La forme des parasites isolés à l'intérieur des hématies (pl. 6 fig. 43—47; pl. 7 fig. 48—51) est variable. Ils se présentent sous une forme allongée avec une extrémité arrondie et l'autre très amincie (pl. 6 fig. 43—46). Dimensions: 2,13—5,68 μ en longueur (le diamètre le plus grand de l'hématie de notre chauve-souris = 5,68 μ) sur 1,42—2,48 μ en largeur.

Il nous est arrivé deux fois de voir des parasites semblables à ceux figurés sur le dessin pl. 6 fig. 46; toutefois les extrémités amincies pourvues du granule chromatique étaient sorties de l'hématie.

Nous avons vu en autre un parasite très large (pl. 7 fig. 50) dont la longueur était égale aux deux tiers et la largeur au tiers de l'hématie.

Le noyau de ces formes de parasites est, pour la plupart, unique; on y perçoit à l'intérieur des corpuscules nucléolaires (pl. 6 fig. 43—45; pl. 7 fig. 48). Il se présente aux diverses phases de la divison nucléaire (pl. 6 fig. 47; pl. 7 fig. 49 et 50). Parfois le noyau est remplacé par un réseau chromidial dans lequel on peut distinguer des corpuscules nucléolaires; ainsi sur le dessin pl. 6 fig. 46 on voit deux corpuscules nucléolaires et, en outre, à l'extrémité de la partie étroite, un petit grain (centrosome?) coloré plus fortement que les corpuscules nucléolaires situés plus bas.

Parfois ces formes de parasite se trouvent associées avec d'autres formes (pl. 7 fig. 51—54).

Nous avons mentionné que, à notre avis, Dionisi avait encore observé des pareilles formes à l'intérieur et en dehors de hématies.

Les parasites piriformes groupés par deux ont tant de ressemblance avec le *Piroplasma bigeminum* que même l'oeil le plus expérimenté ne peut arriver à les distinguer.

On observe les parasites reliés l'un à l'autre par leur extrémité étroite (pl. 7 fig. 56) ou separés (pl. 7 fig. 57) l'un de l'autre.

Leur noyau unique renferme des corpuscules nucléolaires (pl. 7 fig. 57 à gauche) ou se trouve en état de division (même dessin à droite). D'autrefois encore des corpuscules nucléolaires sont disposés dans le réseau chromidial. Les dimensions de ces parasites sont de $^1/_3$—$^2/_3$ du diamètre de l'hématie par la longueur et de $^1/_5$—$^1/_3$ de même diamètre par la largeur.

On ne rencontre que très rarement quatre gros parasites piriformes dans une hématie (pl. 7 fig. 58).

Les parasites figurés sur les dessins pl. 7 fig. 59—62 se rapprochent extrêmement des „Bandformen" qui existent chez l'homme lors de la fièvre quarte ainsi que du *Plasmodium brasilianum* du singe (Gonder et Berenberg-Gossler) et du *Piroplasma canis* (Kinoshita). Ils sont pour la plupart de dimensions égales au diamètre de l'hématie toutefois il en est de moindres (4,26 μ). La largeur de ces parasites est de 0,71—2,13 μ. Leur noyau est rarement unique (sur le dessin pl. 7 fig. 60 on voit dans le noyau deux corpuscules nucléolaires et, en outre, un petit grain chromatique à l'extrémité gauche; sur le dessin pl. 7 fig. 62 on voit le noyau et quatre formations chromatiques poreuses).

Parfois on rencontre deux noyaux (pl. 7 fig. 61) et quelques grains cromatiques plus foncés en d'autres parties du protoplasma cellulaire. Parfois ces grains de chromatine constituent une sorte d'amas et présentent des formes variables (pl. 7 fig. 59).

En général, il n'y a qu'un seul parasite dans une hématie, mais nous avons rencontré une fois deux parasites de cette forme dans une hématie.

On trouve aussi sur notre préparation (bienque rarement) des parasites à forme semilunaire (pl. 7 fig. 63—67). Ceux ci sont composés d'une grande quantité du protoplasma et de peu de chromatine. Ces parasites pour la plupart sont renfermés dans les hématies (pl. 7 fig. 64—67) et exceptionnellement ils sont libres (pl. 7 fig. 63). Leurs dimensions sont de 2,13—2,48 μ de longueur sur 1,4—1,5 μ de largeur, mais nous avons rencontré une fois un parasite dont la longueur était égale à la moitié du diamètre de l'hématie et la largeur au tiers.

En outre, ce parasite se distingue par son noyau qui s'etend

d'une extrémité à l'autre du parasite et par la présence à une de ses extremités d'une petite granulation colorée plus fortement (centrosome?) tandisqu'en général les parasites semilunaires sont pourvus d'un seul noyau arrondi.

Ces formes de parasites ressemblent beaucoup aux microgamètes de la fièvre tropicale de l'homme.

Enfin, il nous est arrivé une fois de rencontrer une formation endoglobulaire très bizarre (pl. 7 fig. 68) d'une forme semilunaire dont le protoplasma apparait coloré en bleu présentant deux petits amas de chromatine avec prolongements. Ces prolongements considerés au point de vue de leur coloration sont tout à la fois basophiles et acidophiles. Les extremités de ces prolongements à leur sortis de l'hématie se courbent presque à angle droit et forment de petits épaississements colorés en rose.

Nous ne pouvons pas nous prononcer sur la nature de cette formation.

Les deux tiers en moyenne de ces parasites (soit 62,70 %) appartiennent au genre falciforme; 25,38 % sont ronds; 5 % — libres; 2,99 % — ameboïdes; 1,59 % — gros piriformes (dont 1,37 % sont isolés, 0,22 % — grouppés par deux); 1,14 %[1]) — petits piriformes; 0,93 % — Bandformen et 0,22 % — semilunaires.

Enfin, il faut mentioner l'*absence du pigment dans ces parasites*.

Presque toutes les hématies étaient en état de polychromatophilie.

Nous avons remarqué que malgré la présence de parasites à leur intérieur les hématies conservent leurs dimensions normales.

III.

En face de cette multitude de formes de parasites, on se demande si on n'est pas en présence des diverses phases d'évolution d'un même parasite ou, au contraire, si on a affaire à des parasites differents.

Il semble que nous nous trouvons en présence d'un seul parasite. Celui-ci circulerait d'abord librement dans le sang (figuré sur le dessin pl. 5, fig. 2—4, surtout les parasites falciformes qui sont en nombre dans le sang et peut-être aussi figuré sur le dessin pl. 5 fig. 5), puis il s'accolerait aux hématies et ensuite pénètrerait à

[1]) Nous comptons pour un seul parasite quatre parasites disposés en croix ou en éventail de telle sorte que le nombre donné doit être multiplié par quatre.

l'intérieur de celles-ci (pl. 5 fig. 6; on peut expliquer la figure pl. 5 fig. 23 par ce fait que dans l'hématie a pénètré un des parasites figurés sur les dessins pl. 5 fig. 2—4) et enfin le parasite revêtirait la forme ronde (peut-être, à la façon qu'a observé Schaudinn lors de la pénètration de sporozoïte de la fièvre tropicale). Les parasites falciformes à extremité gonflée pénètrent, semble-t-il, dans l'hématie par cette extrémité (comme chez Gonder).

On voit que nous sommes disposés à considérer les parasites figurés sur les dessins pl. 5 fig. 2—5 comme des mérozoïtes; quant aux parasites falciformes, ce sont probablement des sporozoïtes introduits dans le sang de la chauve-souris par un insecte (ce n'est qu'une hypothèse qui peut-être affirmée par des recherches ultérieures portant surtout sur le sang des transmetteurs).

Ainsi nous acceptons la forme ronde des parasites comme la base de toutes les autres formes.

Le développement de ce parasite suit deux direction: celle de schizogonie et celle de gametogonie.

Lors de la schizogonie, le noyau du parasite rond subit une évolution grâce à laquelle se forment des prolongements (pl. 5 fig. 11 et 12) achromatiques aux deux extrémités du noyau. Ces prolongements en se courbant se rejoignent en formant un cercle ou une couronne. La substance chromatique est d'abord ramassée dans un point d'où partent les prolongements (pl. 5 fig. 13). Cette substance ou ses corpuscules nucléolaires commencent à se diviser et les produits de cette division se disposent dans la chromatine de la couronne (pl. 5 fig. 14).

Ensuite, la couronne, aus extremités opposées, se divise en deux en deux parties de telle sorte qu'on observe dans un tel parasite deux amas de chromatine composés, chacun, de deux corpuscules nucléolaires liés entre eux par un fil de chromatine (pl. 5 fig. 15).

Ces amas se resserrent en boules, et le parasite représente deux noyaux dans lesquels on aperçoit des corpuscules nucléolaires (pl. 5 fig. 16).

Après que la division nucleolaire est effectuée le protoplasma se divise à son tour en deux et, par conséquent, une hématie renferme deux parasites (pl. 5 fig. 19).

Toutefois on rencontre des parasites qui subissent un commencement de division de leur protoplasma alors que la divisions du noyau n'est pas achevée (pl. 5 fig. 17) ou même pas commencée (pl. 5 fig. 18).

Ce n'est que très rarement qu'on observe des parasites dans

lesquels les deux noyaux ont tendence à donner naissance à quatre parasites-filles (pl. 5 fig. 20). Cependant, nous n'avons jamais observé une hématie renfermant quatre parasites et il est bien rare qu'on en rencontre trois (pl. 5 fig. 22).

C'est là le cycle de schizogonie du développement de notre parasite.

L'évolution du parasite en question peut cependant suivre une autre voie par gametogonie, notamment quand des parasites à forme ronde donnent naissance à de petits parasites piriformes.

Ce mode d'évolution s'effectue de la façon suivante: le noyau d'un parasite rond (pl. 6 fig. 25) se divise en deux de telle manière que ses corpuscules nucléolaires s'eloignent l'un de l'autre (pl. 6 fig. 26). Durant quelque temps un fil achromatique (pl. 6 fig. 27) sert de liaison entre ces deux corpuscules, mais bientôt il se rompt de telle sorte que les deux corpuscules sont isolés. Ainsi se forme un parasite à deux noyaux qui ne deviennent arrondis (pl. 6 fig. 28) qu'après un certain temps. Ces deux noyaux se divisent à leur tour en deux parties (pl. 6 fig. 29) et le parasite apparaît alors avec quatre noyaux (pl. 6 fig. 30).

Cependant, nous ne nions pas que le même processus puisse aussi se produire dans le parasite à deux noyaux lors du premier cycle d'évolution (pl. 5 fig. 16).

Les quatre noyaux s'étant formés se disposent d'une façon très caractéristique: ils se dirigent à la périphérie de la cellule (pl. 6 fig. 30 et 31). Ces noyaux entrainent avec eux des parcelles de protoplasma de telle sorte qu'on observe des figures étranges rappelant des amibes avec des pseudopodes (pl. 6 fig. 32 et 33). En même temps des signes de division se manifestent dans le protoplasma même quand les quatre noyaux n'ont pas terminé leur formation complète. Il en est ainsi sur le dessin pl. 6 fig. 29 où on voit le protoplasma commencer à se diviser en deux parties tandisque un seul noyau a terminé sa division et que l'autre commence seulement à se diviser; sur le dessin pl. 6 fig. 30 on voit le début de division du protoplasma et quatre noyaux déjà formés.

Enfin, les quatre noyaux avec des parcelles du protoplasma s'étant eloignés l'un de l'autre offrent la disposition d'un éventail constitué de quatre parasites piriformes liés d'abord entre eux par le reste du protoplasma (pl. 6 fig. 34) qui se separent ensuite (pl. 6 fig. 35) et se disposent en croix (pl. 6 fig. 36 et 37).

Il nous est arrivé une fois d'observer une hématie avec huit parasites piriformes plus ou moins réguliers. Les figures pl. 5 fig. 21;

pl. 6 fig. 38 et 39 font comprendre, à notre avis, le cycle d'évolution de ces parasites. En premier lieu apparaissent deux parasites ronds dont le noyau se divise en quatre. Ces huit parasites ne se disposent pas avec regularité.

Tel est le cycle d'évolution des petits parasites piriformes que nous avons suivi sur plusieurs parasites.

Certes, cette évolution n'est pas constante et nous avons rencontré un parasite à quatre noyaux avec trois parties de protoplasma separées (pl. 6 fig. 40); cependant nous n'avons jamais observé trois petits parasites piriformes libres dans une hématie.

Sur le dessin pl. 6 fig. 42 sont figurés aussi les parasites piriformes, mais ils se distinguent par leur structure de ceux décrits immédiatement. Nous n'avons pu suivre le cycle d'évolution complet de ces formes de parasites. Nous avons trouvé sur la préparation une seule hématie (pl. 6 fig. 41) dans laquelle deux formations piriformes s'étaient déjà separées du corps du parasite et dans le reste de la cellule maternelle le noyau s'était divisé en deux tandisque le protoplasma était intact. Mais il n'est pas possible deconsidérer ces deux formations comme étant la consequence l'une de l'autre.

GONDER explique autrement la formation des formes de parasites que nous appelons les piriformes. Il considère comme la première phase de l'évolution les gros parasites, occupant quelquefois l'hématie entière, à protoplasma poreux et à grosses vacuoles. Les noyaux de ces parasites sont irréguliers, parfois poreux et ont le même aspect que le réseau chromidial. Le dernier donne lieu à la formation de quatre noyaux suivis de la division du protoplasma.

Notre explication nous paraît plus simple.

La gamétogonie peut s'effectuer encore d'une autre façon et donner lieu à la place de petits parasites piriformes, à de gros parasites piriformes groupés par deux qui ressemblent beaucoup au *Piroplasma bigeminum* (pl. 7 fig. 56 et 57).

Malheureusement, nous n'avons pu suivre le cycle d'évolution complet de ces formes du parasite. Néanmoins, nous nous croyons en droit de considérer le parasite figuré sur le dessin pl. 7 fig. 55 comme appertenant à la forme ronde au début de la division en deux parties (poires): le noyau et le protoplasma sont déjà divisés en deux, mais restent encore rapprochés par leurs grosses extrémités. Les parasites figurés sur les dessins pl. 7 fig. 56 et 57 représentent des parasites déjà separés l'un de l'autre. Le rapport des amas de chromatine principaux et petits, dans ces formes du parasite, est le même que chez le piroplasme. Mais l'évolution peut aller jusqu'à

la formation de quatre parasites piriformes dans une hématie (pl. 7 fig. 58).

Sur notre préparation existe beaucoup moins de parasites piriformes groupés par deux dans l'hématie que des parasites isolés (pl. 6 fig. 42—47; pl. 7 fig. 48, 50) ou associés à d'autres formes du parasite (rondes — pl. 7 fig. 51—53, falciformes, semblables à des Bandformen — pl. 7 fig. 53 atypiques etc.). Toutes ces formes du parasite sont derivées des parasites ronds et, peut-être, comme cela avait été demontré pour le *Piroplasma canis* par Nuttal et Graham-Smith.

Nous considerons que les gros parasites piriformes sont des gamétocytes. Rappelons que Kinoshita avait été du même avis au sujet de semblables formes du *Piroplasma canis.*

On peut distinguer dans nos parasites des formes masculines et feminines. Les premières ont le protoplasma peu coloré sans vacuoles; leur noyau est petit et se colore assez fortement (pl. 6 fig. 43, 44, 45 et 47; pl. 7 fig. 51, 52 et 54). Les secondes sont munies du protoplasma plus faiblement coloré à noyau assez grand, parfois en état de division (pl. 6, 46; pl. 7 fig. 48—50).

Les parasites figurés sur les dessins pl. 7 fig. 59—62 rappelant beaucoup des Bandformen sont considéres par divers auteurs comme caractéristiques de la malaria de l'homme; mais Kinoshita ayant observé des formes semblables chez le *Piroplasma canis* les considére comme des formations artificielles qui se sont produites pendant la préparation parceque il n'en a jamais rencontré dans le sang frais.

Nous sommes prêts à admettre l'opinion de Kinoshita, parceque dans le cycle du développement de notre parasite, elles ne sont, à notre avis, pour rien.

Nous n'avons du suivre le développement des formes semilunaires du parasite qui ressemblent aux macrogamètes du *Plasmodium praecox*; mais il nous paraît impossible de les considérer comme des macrogamètes. Il est possible que ce soient des parasites ronds de formation irregulière au ayant subi des changements, enfin, et c'est plus vraisemblable, les parasites semilunaires pourraient être considérés comme une phase ultérieure de parasite falciforme ayant pénétré dans l'hématie (par exemple pl. 5 fig. 9) et ayant commencé à prendre la forme ronde.

IV.

Notre parasite rencontré chez la chauve-souris à Tourkestan peut il être identifié evec celui observé par Dionisi, Berestneff, Galli-Valerio, Kisskalt, Gonder et Neumann?

Nous le croyons. En examinant les dessins de Dionisi nous rencontrons bien des figures rappelant les nôtres. Nous y apercevons par exemple deux parasites que nous appelons les gros piriformes. Dans le travail de Schingarev auquel sont joints des dessins effectués d'après les préparations de Berestneff il y a quatre parasites (fig. 22 et 25) qui ressemblent à nos gros parasites piriformes.

Galli-Valerio et Kisskalt ont observé seulement des parasites ronds qui sont nombreux sur notre préparation.

Gonder a observé, en outre, de nouvelles formes du parasite que n'avaient pas rencontré les auteurs précités, notamment des parasites falciformes et periformes. (Ces derniers correspondent à nos petits parasites piriformes.) Nous avons les mêmes formes du parasite sur notre préparation.

Les parasites observés par Neumann ressemblant à des *Leishmania* sont représentés aussi sur notre préparations (nous avons parlé plus haut de la différence qui existe entre les formes de notre parasite et celles de Neumann).

Ainsi nous nous croyons en droit de répondre affirmativement à la question posée. Notre préparations renferme des formes du parasite qui ressemblent, si elles ne sont pas identiques, à celles observées par les auteurs précités. Mais tandisque, dans notre préparations, nous avons rencontré les diverses formes d'évolution du parasite en question, les auteurs précités n'ont observé que quelques unes de ces formes.

Par conséquent, nous pouvons tirer la conclusion que notre parasite est bien celui que Dionisi avait observé le premier et appelé l'*Achromaticus vesperuginis* et que, après lui, avaient vu d'autres auteurs.

V.

Il nous reste maintenant à tenter de préciser la nature de l'*Achromaticus* Dionisi et à determiner sa place parmi d'autres hématozoaires.

Au commencement de ce travail, nous avons montré combien sont nombreuses les opinions des auteurs sur cette question.

La question du rapprochement de l'*Achromaticus* aux trypanosomes ne peut être encore solutionnée, mais nous savons que quelques auteurs (Gonder, Nuttal et Graham-Smith, Neumann) ont tendance à considérer ce parasite comme très proche des piroplasmes.

Kinoshita et l'un de nous ont observé le parasite figuré sur le dessin pl. 5 fig. 4 libre dans la piroplasmose canine. Les auteurs italiens (Barucchello, Pricolo, Mori) ont rencontré des petits parasites piriformes dans la piroplasmose équine. Les parasites figurés sur les dessins pl. 5 fig. 21 et 24 correspondent aux parasites figurés sur les dessins 4 et 5 de Nuttal et Graham-Smith dans la piroplasmose canine. Les parasites sur le dessin pl. 5 fig. 13 ressemblent à ceux des dessin 23 des mêmes auteurs. Le dessin pl. 5 fig. 12 est semblable au dessin 29 des mêmes auteurs. La disposition de la chromatine dans les parasites piriformes groupés deux par deux dans une hématie est presque la même sur nos dessins pl. 5 fig. 56 et 57 que sur les dessins 13 et 14 des mêmes auteurs.

Nos parasites falciformes (pl. 5 fig. 6 et 8) sont les mêmes que ceux des mêmes auteurs. Les Bandformen qu'a observés Kinoshita dans la piroplasmose canine sont identiques à ceux qu'a rencontré l'un de nous dans la piroplasmose équine.

Les parasites figurés sur le dessin pl. 5 fig. 21 ressemblent à ceux de Tristezza (Lignières). L'un de nous a rencontré les mêmes formes de parasites dans la piroplasmose canine.

On peut toujours rencontrer nos gros parasites piriformes chez les animaux envahis par le piroplasma bigeminum.

Quant aux gros parasites piriformes groupés par deux, on ne les peut distinguer du piroplasma bigeminum classique.

Si Gonder se croyait en droit de rapprocher le parasite en question du piroplasma le plaçant, cependant, entre le parasite de la malaria de l'homme et les piroplasmes, nous sommes d'avis, en tenant compte de tout ce qu'a été ici exposé à considérer le parasite en question comme le vrai piroplasma.

Littérature.

Barucchello e Pricolo: La piroplasmi equina in Sardegna. Annali d'Igiene sperimentale, t. XVIII, 1908.

Barucchello e Mori: Sulla eziologia del così detto tifo o febre petecchiale del cavallo. Ibd. t. XVI, 1906.

Berestneff: cit. Schingareff.

Dionisi: Die Malaria einiger Fledermausarten. Untersuchungen zur Naturlehre des Menschen und der Tiere Moleschotts, Bd. 17, Heft 3—4. — La malaria di alcune specie di pipistrelli. Annali d'Igiene sperimentale, Vol. IX, 1899.

Galli-Valerio: Notes des parasitologique et de technique parasitologique. Zentralbl. f. Bakt. I, Bd. 39, 1905.

Gonder: Achromaticus vesperuginis (Dionisi). Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte, Bd. 24, Heft 2, 1906.

Kinoshita: Untersuchungen über Babesia canis. Arch. f. Protistenk. Bd. 8, 1907.

Kisskalt: Blutparasiten der Fledermäuse. Zentralbl. f. Bakt. I, Bd. 40, 1906.

Lignières: La piroplasmose bovine. Archives de parasitologie, 1903.

Neumann: Über die Blutparasiten von Vesperugo und deren Weiterentwicklung in den Milben der Fledermäuse. Arch. f. Protistenk. Bd. 18, Heft 1, 1909.

Nuttal & Graham-Smith: Canine piroplasmosis. Journal of Hygiene, 1905, 1906, 1907. — The mode of multiplication of piroplasma bovis, etc. Parasitology, Vol. I, 1908.

Schingareff: Sur ce question des hémosporidies des chauves-souris. Arch. des Sciences biologiques, t. XII, f. 3, 1907.

Yakimoff: Sur le question de la piroplasmose des chiens. Journal naustchnoi i praktitscheskoi veterinarnoi mediziny (en russe), t. IV, f. 2, 1910. — La piroplasmose des chiens en Russie. Bulletin de la Société de Pathologie exotique, 1911, Nr. 2.

Notiz über das Aussehen der Bakterien im Ultramikroskop.

Von
Professor **Arthur Meyer** in Marburg a. L.

(Mit 4 Textfiguren.)

Die Angaben über die Bilder, welche Bakterien im Ultramikroskope zeigen, sind allermeist sehr unklar. Ich verweise als Beispiel für solche Unklarheit und Unrichtigkeit der Auffassung auf die Arbeit von Gaidukow (Über die ultramikroskopische Untersuchung der Bakterien und über Ultramikroorganismen; Zentralbl. f. Bakteriol. Abt. II, Bd. 16, S. 667 und „Dunkelfeldbeleuchtung und Ultramikroskopie“, Fischer, 1910, S. 35). In dieser Arbeit wird z. B. von ultramikroskopischen Bakterien, die sofort sichtbar werden, wenn man Pilzzellen oder Pflanzengewebeschnitte usw. in destilliertes Wasser legt, geredet, die sicher nichts weiter waren als beliebige tote Stoffpartikel, vielleicht Stärkekörner, Kriställchen usw., welche in Molekularbewegung begriffen waren. Molisch (Botanische Zeitung 1908, S. 136) ist darüber derselben Meinung wie ich. Es wird ferner behauptet, der Körper der Bacillusarten bestände aus zwei symmetrischen Teilen und besäße die Fähigkeit seine Form zu ändern. In seiner ersten Mitteilung hatte Gaidukow auch von „Kopulationen der Bakterien“ geredet, führt aber jetzt (1910) die Erscheinung, wohl weniger unrichtig, auf Agglutination zurück. Alle diese und ähnliche Angaben sind darauf zurückzuführen, daß ihre Autoren die Bakterien und ihr Aussehen bei normaler Beleuchtung nicht genügend kannten.

Freilich ist die Deutung der Dunkelfeldbilder viel schwieriger als die der Hellfeldbilder und die Dunkelfeldbilder sind in viel auffallenderem Maße abhängig von der Beleuchtung als die Hellfeldbilder. Die geringste Drehung des Spiegels des Mikroskopes ver-

ändert das Dunkelfeldbild, und nur der Vergleich wohlbekannter Hellfeldbilder von Objekten, mit deren Bau man völlig vertraut ist, mit den verschiedenen Dunkelfeldbildern desselben Objektes lehrt uns nach und nach die richtige Auffassung der Bilder, welche bei verschiedener Einstellung des Spiegels entstehen. Der Vorteil der Dunkelfeldbeleuchtung besteht darin, daß mancherlei morphologische Bestandteile der Bakterien durch die starken Kontraste des Dunkelfeldbildes zwischen Hell und Dunkel leichter sichtbar sind als im Hellfeld. Sehr feine Objekte, wie z. B. einzelne Geißeln der Bacillen, die man ja noch im gefärbten Zustande mittels der Hellfeldbeleuchtung sichtbar machen kann, lassen sich auch im besten Dunkelfelde nicht sichtbar machen. Im allgemeinen sieht man also im Dunkelfeld nichts anderes als man im Hellfelde mit den besten Objektiven und Okularen sehen kann, nur sieht man manche Dinge bedeutend leichter und auffallender als im Hellfelde des Mikroskopes.

Ich habe die wichtigsten morphologischen Bestandteile der Bakterien im besten Dunkelfelde untersucht, welches ich erhalten konnte. Ich benutzte schließlich die folgenden Instrumente:

Lichtquellen: 1. 26 amp. Gleichstromlampe,
2. Nernstlampe von Zeiss.

Objektive: E von Zeiss mit Einhängeblende,
Homogene Immersion 1:12 von Zeiss mit Einhängeblende.

Okular: Kompensationsokular 12 von Zeiss.

Dunkelfeldkondensor: Konzentrischer Spiegelkondensor nach Dr. Jentzsch von Leitz.

Dieser Kondensor leistet ausgezeichnetes und ist sehr zu empfehlen. Er leistete mir mehr als der Paraboloidkondensor von Zeiss.

Ich gebe einige Skizzen des Aussehens der Bakterien im Dunkelfelde und mache einige Angaben über das Verhalten der verschiedenen Gebilde im Dunkelfelde. Die von Reichert (Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. Originale, Bd. 51, Heft 6) sorgfältig mit dem Ultramikroskope untersuchten Geißeln lasse ich unberücksichtigt.

Die lebenden Bakterien hellen das Dunkelfeld infolge der Eigenschaft ihrer Membran und der eventuell in dem Cytoplasma auftretenden Einschlüsse sehr stark auf und sind deshalb im normalen Dunkelfelde äußerst leicht sichtbar, wenn sie in einem optisch leeren Substrate liegen.

Die Membran der Bakterien tritt bei normaler Einstellung der Beleuchtung klar und scharf bei allen Morphoden der Bakterien

hervor. In Fig. 1a und 1c ist die Membran der Stäbchen von *Bacillus tumescens* dargestellt.

Man kann aber das Bild der Membran durch andere Einstellung des Spiegels fast zum Verschwinden bringen (Fig. 1b). Hierbei treten bei dafür richtiger Beleuchtung an den Polen der Zelle helle Punkte hervor, welche nur durch die starke Krümmung der Membran an den Polen der Zelle hervorgerufen wird.

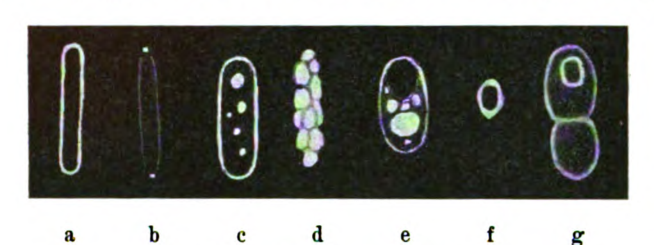


Fig. 1. *Bacillus tumescens* ZOPF.
a) ganz junges fettfreies Stäbchen, bei normaler Einstellung des Spiegels. b) dasselbe Stäbchen bei anderer Einstellung des Spiegels. c) wenig Fett führendes, etwas älteres Stäbchen, bei normaler Einstellung. d) sehr viel Fett führendes Stäbchen. e) Sporangium mit Sporenanlage und Fett. f) Spore. g) altes, fettfreies Sporangium mit fertiger Spore.

Bei den Zellen von *Sarcina ureae*, also bei kugelförmigen Zellen, sieht man unter gleichen Verhältnissen vier hell leuchtende runde Punkte, die wie erleuchtete Körnchen aussehen, aber beim Drehen des Objektes der Richtung der Membran weiter wandern. Da, wo viele stark leuchtende Einschlüsse in der Zelle vorhanden sind, wird die Membran manchmal so überstrahlt, daß sie selbst bei normaler Einstellung kaum zu erkennen ist, so daß das Bild der Zelle dann so aussehen kann wie Fig. 1d. Da, wo das Cytoplasma von etwas schwächer aufhellendem Glykogen oder Iogen durchsetzt ist, grenzt sich die Membran von dem Inhalt unvollständig ab (Fig. 3).

Von den Einschlüssen des Cytoplasmas der Bakterienzelle tritt das Fett stets am auffallendsten hervor. So sieht man es z. B. bei *Bacillus tumescens* (Fig. 1c, d, e) ebenso hell oder etwa heller als die Membran hervortreten. Etwas weniger hell leuchten die Volutinkörner auf, wie das in Fig. 2 beispielsweise für *Bacillus asterosporus* A. M. dargestellt ist.

Fett und Volutin sind übrigens kaum auseinander zu halten, wenn sie in derselben Zelle vorkommen. Auch das Glykogen hellt auf, da es aber niemals in solchen scharf umschriebenen Formen vorkommt wie das Fett und das Volutin, da es ferner in einer wasserarmen kolloidalen Form auftritt, so ershceint es niemals so scharf umgrenzt und erhellt mehr ungleichmäßig Stellen des Cytoplasmas.

Besonders stark, stärker als die Membran der Stäbchen, leuchtet die Sporenmembran auf (Fig. 1f, Fig. 3). Von den Fetttropfen usw. unterscheiden sich die fertigen Sporen immer leicht dadurch, daß sie in der Mitte einen dunklen Kern besitzen. Auffallend leuchtende

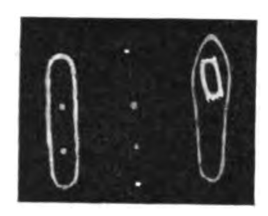






Fig. 2a. 2b. 2c. Fig. 3. Fig. 4.

Fig. 2. *Bacillus asterosporus* A. M. a) junger Schwärmer mit zwei Volutinkugeln. b) Derselbe Schwärmer bei anderer Beleuchtung mit den beiden leuchtenden Membranpunkten. c) Altes Sporangium mit fertiger Spore.

Fig. 3. *Bacillus amylobacter* A. M. et Bredemann. Sporangium, welches oben eine fast reife Spore, unten noch Iogen im Cytoplasma enthält.

Fig. 4. Sporangium mit reifer Spore von *Sarcina ureae* Beijerinck.

und dicke Sporenmembranen besitzen z. B. auch die Sporen von *Sarcina ureae* Beijerinck. In Fig. 4 ist ein Sporangium mit einer reifen Spore dargestellt.

Das Cytoplasma und der Zellkern hellen das Dunkelfeld kaum auf. Es steht diese Tatsache in Übereinstimmung mit meiner Auffassung von der Natur des Cytoplasmas, welches als einphasiges Hydrohyl (siehe Arthur Meyer, Ber. d. Deutsch. bot. Gesellsch., 1906, S. 340), nicht erheblich aufhellend wirken kann, wenn die Zelle im Wasser liegt. Den Zellkern habe ich im Dunkelfeld niemals erkennen können. Innerhalb der hell leuchtenden Sporenmembran und Zellmembran erscheint der Protoplast oft so dunkel wie das Dunkelfeld selbst.

Die Geißeln besitzen wohl entschieden eine größere Dichte als der Zellkern, denn sie leuchten, wenn sie eine genügende Dicke haben, deutlich auf.

Zu dem hier mitgeteilten sind die Beschreibungen des Baues der hier als Beispiel benutzten Species, wenigstens: „Ellis, Beiträge zur Kenntnis der Coccaceen und Spirillaceen, Zentralbl. f. Bakt., I. Abt. Originale, 33. Bd. 1902—1903; Arthur Meyer, Über Geißeln, Kerne und Sporenbildung der Bakterien, Flora, 1899, 86. Bd. 5. Heft und Grimme, Die wichtigsten Methoden der Bakterienfärbung, Zentralb. f. Bakt., I. Abt. Bd. 32, 1902“ zu vergleichen.

(Aus dem Pasteur-Institut in São Paulo, Brasilien.)

Über Schizogonien bei Trypanosomen.

Von

Dr. A. Carini.

(Hierzu 2 Textfiguren.)

Wie bekannt, hat CHAGAS[1]) bei seinem *Schizotrypanum cruzi* in den Lungen von Meerschweinchen eine Schizogonie beschrieben. Das Trypanosoma nimmt nach Abwerfen der Geißel eine rundliche Gestalt an und zerfällt stets in acht Merozoiten. CHAGAS hat dabei zwei Arten von dieser Schizogonie unterschieden, eine mit, die andere ohne Blepharoplast, und er hat gedacht, daß dies auf einer sexuellen Differenzierung in männliche und weibliche Formen beruht.

Ähnliche Formen sind später von mir[2]) auch in Lungen von Ratten, die mit *Trypanosoma lewisi* spontan infiziert waren, und ferner auch von GASPAR VIANNA[3]) bei *Trypanosoma gambiense* gefunden worden.

---

[1]) CHAGAS, Über eine neue Trypanosomiasis des Menschen. Mem. do Inst. Osw. Cruz. Tomo I fasc. II.

[2]) CARINI, Formas de schizogonia do Trypanosoma Lewisi. Arch. Soc. de Med. e Cir. de S. Paulo. Amo I u. III p. 204.

[3]) GASPAR VIANNA, Algumas notas sobre o cyclo evolutivo do tryp. gambiense. Brazil Med. 15. Februar 1911.

Neuerdings aber hat HARTMANN [1]) in Präparaten aus der Lunge von mit *Schizotrypanum cruzi* infizierten Meerschweinchen eine weitere Art der Schizogonie gefunden, die sich im Innern von stark hypertrophierten Endothelien abspielt. HARTMANN fand solche Zellen von kleinen, etwas birnförmigen Parasiten, ohne Geißel aber

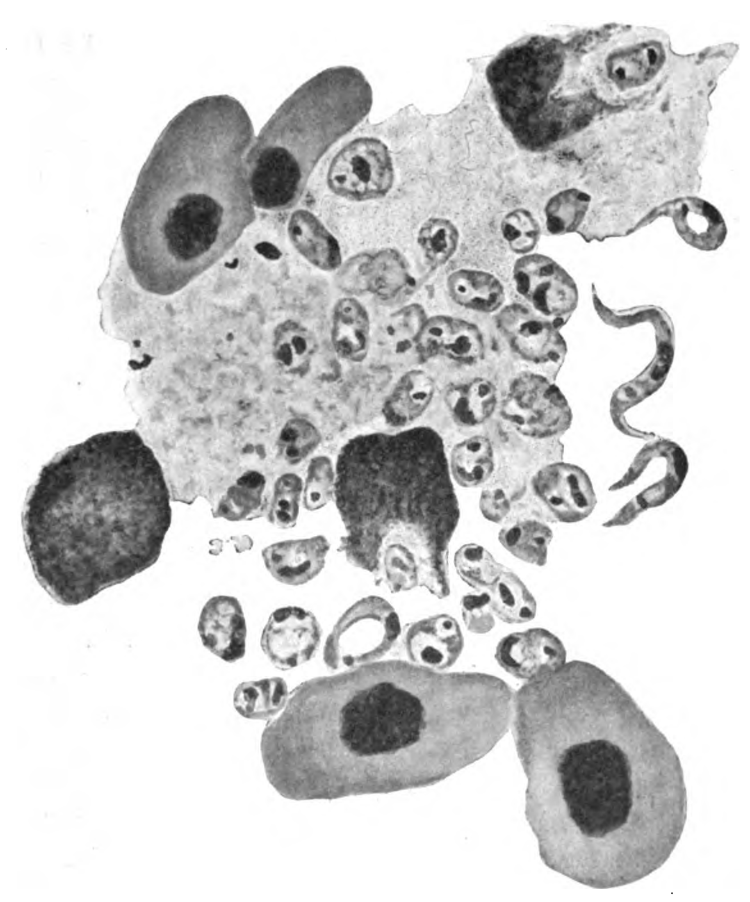


Fig. 1. *Trypanosoma leptodactyli* CAR. Schizogonie und Umwandlung der Merozoiten in Flagellaten. ZEISS, Obj. 2 mm, Comp. Oc. 12.

mit einem deutlichen Blepharoplast versehen, gefüllt. Über die Bedeutung dieser Schizogonie im Entwicklungskreis von *Schizotrypanum cruzi* ist es, nach HARTMANN, noch zu früh, etwas Bestimmtes zu sagen.

[1]) HARTMANN, Notiz über eine weitere Art der Schizogonie bei Schizotryp. cruzi. Arch. f. Protistenk., Bd. 20, 1910.

Bei Untersuchungen von einem *Leptodactylus ocellatus,* stark infiziert mit *Trypanosoma leptodactyli* habe ich, — besonders in dem aus dem Herz gewonnenen Blute — Gebilde gefunden, die den von Hartmann beschriebenen sehr ähnlich sind.

Es handelt sich um große Mononucleäre — sehr wahrscheinlich endotheliale Zellen —, die sehr hypertrophiert sind und die verschiedenen Parasiten (5—45), von rundlicher oder ovaler Gestalt mit sehr deutlichem großen Blepharoplast, enthalten. Diese endocellulären Parasiten sind nicht alle gleich groß, da manche unter ihnen bis die doppelte Größe erreichen. Die Ähnlichkeit dieser Elemente mit den Leishmannien ist so perfekt, daß man sie wirklich als echte *Leishmania* deuten würde, fände man nicht in demselben Präparat auch alle Übergangsstadien zwischen solchen Formen und den typischen Trypanosomen (Fig. 1).

Diese Parasiten, einmal frei, wandeln sich in typische Trypanosomen um, und diese Umänderung geschieht gewöhnlich in folgender Weise: das Protoplasma kondensiert sich an der Peripherie und es entsteht zwischen Kern und Blepharoplast ein heller ovaler Raum, der sich immer mehr vergrößert, und den Kern und den Blepharoplast nach der Peripherie drückt, und schließlich teilt sich das Protoplasma an dem dem Kern gegenüberliegenden Pol (Fig. 1).

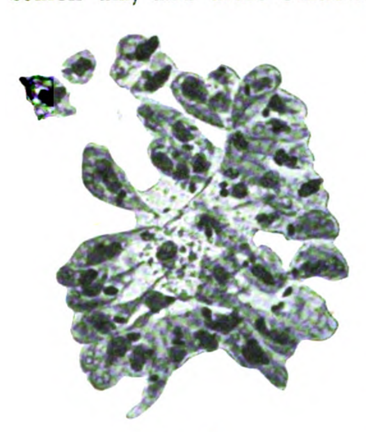


Fig. 2.
Trypanosoma leptodactyli Car.
Rosettenform.
Zeiss, Obj. 2 mm, Comp. Oc. 18.

Dieser Befund scheint uns sehr wichtig, denn er zeigt, daß diese Vermehrungsvorgänge nicht nur bei *Schizotrypanum cruzi*, sondern auch wahrscheinlich bei vielen anderen Trypanosomen vorkommen.

Es ist endlich noch zu bemerken, daß in meinen Präparaten neben dieser Art von Schizogonie noch eine andere zu finden ist: die Trypanosomen zerfallen in zahlreiche ovale Elemente, die mit Blepharoplast und Geißel ausgestattet und anfangs rosettenförmig angeordnet sind (Fig. 2).

Es scheint mir auch, daß man hier sehr gut die Trypanosomenformen sexuell differenzieren kann:

Die schmalen Formen mit großem kompakten Kern, mit wenig entwickelter ondulierter Membran, mit hellem Protoplasma scheinen

die männlichen Individuen zu sein. Es sind gerade diese Formen die aus den *Leishmania*-ähnliche Parasiten hervorzugehen scheinen.

Dagegen können die anderen, breiteren Trypanosomen mit kleinem, wenig kompaktem Kern, mit gut entwickelter Membran und dunkelblauem Protoplasma als weibliche Formen gedeutet werden. Und es scheint, daß diese letzten Formen aus den in den Rosetten enthaltenen Parasiten entstehen.

São Paulo, 20. April 1911.



Referate.

Dobell, C. C., Contributions to the Cytology of the Bacteria. in: Quart. Journ. micr. Sci. Vol. 56 part 3 1911. (S. 395—506, mit 1 Textfig. und 4 Tafeln.)

In dieser Arbeit sind die Ergebnisse meiner Untersuchungen über die Cytologie der Bakterien zusammengebracht — Untersuchungen, mit welchen ich mich während mehr als 4 Jahren beschäftigt habe. Das Ziel der Untersuchung war zu entscheiden, ob die Bakterien kernhaltige oder kernlose Organismen sind. In bezug auf diese Frage herrschen bekanntlich in der Literatur die verschiedenartigsten Ansichten. Die Bakterien werden häufig als kernhaltig, häufig als kernlos, häufig als nackte Kerne betrachtet. Aus der Literatur kann man nicht ersehen, was für eine Struktur den Bakterien eigentlich zukommt.

Die Arbeit zerfällt in drei Hauptteile — Einleitung und historische Übersicht der Literatur, wobei ich mich bestrebt habe, den jetzigen Stand der Frage darzustellen; Beschreibung meiner eigentlichen Beobachtungen und der dazu verwendeten Technik; Analyse der wichtigsten Angaben, und Schlußfolgerungen.

Über die Literatur, das technische Verfahren und die Einzelheiten der Beobachtungen kann hier nicht die Rede sein. (Details sind natürlich im Original zu finden.) Bemerken will ich nur, daß ich mich immer bemüht habe, mit den größten und geeignetsten Bakterienformen zu arbeiten. Das Untersuchungsmaterial besteht hauptsächlich aus großen, bis jetzt unbeschriebenen, in Amphibien- und Reptiliendärmen parasitisch lebenden Organismen. Ich habe viele Formen der „Gattungen" *Micrococcus*, *Sarcina*, *Bacillus*, *Spirillum*, sowie der sog. „spindelförmigen Bacterien" usw. untersucht. Ich werde meine Hauptergebnisse möglichst kurz zusammenfassen.

Wenn man von Kernen spricht, ist es notwendig zu wissen, was man darunter versteht. Meiner Meinung nach ist der Kern in der gründlichsten Analyse nur morphologisch aufzufassen. Der Begriff „Kern" ist ursprünglich ein morphologischer — er gehört nicht der Chemie oder der Physik an. Unter „Kern" versteht man eine lebende Struktur, welche ausfindig wäre, sogar wenn die Chemie und die Farbentechnik ganz unbekannt geblieben wäre. Zuerst gehört der Kernbegriff der Morphologie. Die Farbenreaktionen, die chemischen und physischen Eigenschaften des Kernes sind ganz sekundär. „Chromatin" und „Kern"

sind nicht identisch — sonst wäre ein Pfund Chromatin als ein Kern aufzufassen. Bringt man z. B. den zwingendsten Beweis dafür, daß gewisse Körnchen in einem Bakterienleibe aus Chromatin bestehen, so ist man ohne weiteres gar nicht berechtigt, dieselben einen Kern zu nennen. Ferner, nennt man ein ganzes Bakterium einen Kern, so erklärt man die Struktur des Bakteriums gar nicht — man braucht vielmehr das Wort „Kern" in einem ungewöhnlichen Sinne.

Nach diesem Vorwort kehren wir den Tatsachen zu. Wir werden zunächst die *Coccus*-Bakterien betrachten. Ich habe gezeigt, daß gewisse große *Micrococcus*- und *Sarcina*-Arten ein kleines, rundes, zentral liegendes, leicht darstellbares Körperchen besitzen. Dieses Körperchen kommt in der Einzahl vor, ist in jedem Organismus stets vorhanden und teilt sich hantelförmig. Die Teilung desselben geht stets der Körperteilung voraus. Morphologisch betrachtet ist also dieses lebende Körperchen ein Kern. Fügt man noch hinzu, daß das Körperchen sich mit gewissen Kernfarbstoffen tingiert, so ist diese Deutung bestätigt. Meines Erachtens ist eine alternative Deutung des Körperchens nicht zu finden. Daß das Körperchen wirklich existiert, sehe ich als vollkommen bewiesen an. (Bestätigungen der Befunde sind ferner in den Arbeiten von NAKANISHI und MENCL zu finden.)

Ich habe gezeigt, daß bei vielen großen Bacillen eine eigenartige Innenstruktur vorkommt. Diese Organismen, die ich Bacillen der *Spirogyra*-Gruppe [1]) nenne, besitzen immer einen axial liegenden, mehr oder minder verschlungenen Spiral- oder Zickzackfaden. Der Faden ist stets vorhanden, ist ein lebendes Gebilde, läßt sich mit Kernfarbstoffen färben und zeigt bei der Vermehrung eine der Körperteilung vorausgehende Querteilung. Diese Spiralfäden nannte ich schon früher — Kerne. Diese Deutung habe ich bestätigt, und zwar folgendermaßen. Die Untersuchung vieler *Coccobacillus*-Formen, welche alle Übergänge von kugeligen Coccusformen bis zu langgestreckten Stäbchenformen zeigen, hat gezeigt, daß Hand in Hand mit dem Ausziehen der Kugelform zur Stäbchenform eine Ausdehnung des kugeligen Zentralkörperchens der ersteren zum fadenähnlichen Zentralkörperchen der letzteren geht. Der Spiralfaden der *spirogyra*-ähnlichen Bacillen ist also das Äquivalent — im striktesten morphologischen Sinne — des kugeligen Zentralkörperchens der Kugelbakterien. Wenn also das letztere ein Kern ist — was mir ganz sicher zu sein scheint —, so ist der Spiralfaden auch ein Kern.

Bei manchen Bacillen (z. B. der *Flexilis*-Gruppe usw.) ist ein System kleiner, sich mit Kernfarbstoffen tingierender Körnchen die einzige darstellbare Innenstruktur. Diese „Chromidien" sind schon häufig (von SCHAUDINN, GUILLIERMOND, mir usw.) als Kernäquivalente angesehen worden, doch fehlt bis jetzt ein zwingender Beweis dafür. Nun habe ich gezeigt, daß bei einer sehr großen, mit einem Spiralfaden ausgestatteten *Bacillus*-Art (*B. saccobranchi*) der Spiralfaden im Laufe der Entwicklung sich in ein Chromidialsystem umwandelt, d. h. die Chromidien sind bloß ein Entwicklungsstadium derselben Struktur. Wenn also der Spiralfaden

[1]) Weil dieselben dem schon von mir beschriebenen *Bacillus spirogyra* ähnlich sind.



als Kern aufzufassen ist, so gilt diese Deutung ebenfalls für den Chromidialapparat.

Bei Spirillen habe ich ganz ähnliche Verhältnisse getroffen. Bald fand ich bei diesen Organismen ein kugeliges Zentralkörperchen, bald einen Spiralfaden, bald ein Chromidialsystem. Bei den Spirillen trifft also dieselbe Deutung der Befunde zu.

Ich habe die Hauptzüge meiner Arbeit schon skizziert — doch ist es natürlich notwendig, wenn man über die Kernfrage der Bakterien sprechen will, die Analyse der Bakterienstruktur in mancher Hinsicht weiter auszudehnen. Über die metachromatischen Körnchen („corpuscules métachromatiques" GUILLIERMOND, „Volutinkörner" A. MEYER), die eine so wichtige Rolle in der Literatur spielen, über die spindelförmigen Bakterien, über die bakterienähnlichen Pilze, die ich untersucht habe, über die systematische Stellung der Bakterien usw. kann hier nicht die Rede sein. Ich verweise auf das Original, wo diese und andere Gegenstände diskutiert sind.

Wenn man die Literatur (besonders die neueren Arbeiten von SCHAUDINN, GUILLIERMOND, SWELLENGREBEL und MENCL) im Lichte meiner Befunde berücksichtigt, so ist es ersichtlich, daß die widerstehenden Angaben mancher Forscher — insoweit dieselben auf einer Basis guter Technik beruhen — alle in Einklang gebracht werden können. Meine Auffassung der Tatsachen ist folgende: Die Bakterien sind, wie alle Protisten überhaupt, kernhaltige Organismen. Die Form des Kernes ist veränderlich, nicht nur bei verschiedenen „Arten" der Bakterien, sondern auch bei derselben „Art" zu verschiedenen Entwicklungsphasen. Jede Kernform ist also eine vorübergehende. Bei einigen Bakterien ist es bewiesen, daß eine gewisse Kernform einem gewissen Entwicklungsstadium entspricht (z. B. Bacillen der *Flexilis*-Gruppe); bei anderen dagegen ist ein Zusammenhang zwischen Kernform und Entwicklungsstadium noch nicht festgestellt. Der Kern selbst ist, wie wir schon oben gesehen haben, verschiedenartig aufgebaut: er kann als ein kugeliges Körperchen, als ein spiraliger bzw. gerader oder zickzackförmiger Faden, oder aber als ein Chromidialsystem vorkommen. Auch sind alle Zwischenformen zu finden. Daß es kernlose Bakterien gibt, ist meiner Meinung nach vollständig unbewiesen.

Anhangsweise wandte ich mich nochmals gegen die vermeintliche „Autogamie" der zweisporenbildenden Bacillen. Daß diese „Autogamie" auf einer falschen Deutung der Tatsachen begründet ist, habe ich schon vor zwei Jahren nachgewiesen.

Ich glaube, daß ich recht habe, wenn ich sage, daß das Problem des Bakterienkernes endlich (soweit es jetzt möglich ist) eine Lösung gefunden hat. (Autoreferat.)

Hamburger, Cl., Studien über *Euglena Ehrenbergii*, insbesondere über die Körperhülle. Sitz.-Ber. der Heidelb. Akad. der Wiss. Math.-naturw. Kl. Jahrg. 1911 4. Abhandl. p. 1—22, 1 Tafel.

Verf. stellte ihre Untersuchungen hauptsächlich an *Euglena ehrenbergii* an, ferner zur Ergänzung an *E. viridis*, *granulata*, *spirogyra* und

doses. Zunächst wurden die Angaben von WAGER und HEUER bestätigt und erweitert. Der Trichter steht in dauernder offener Verbindung mit dem Reservoir, um den Trichter herum liegt ein dichterer Plasmaring, der als Sphinkter wirkt. „Die Geißel, welche bei *E. ehrb.* sehr kurz ist, durchzieht den Trichter als gleichmäßig dicker Faden, der sich beim Übergang in das Reservoir in zwei Äste spaltet, welche — sich kreuzend — das Reservoir durchlaufen und an seiner hinteren Wand sehr nahe beieinander in einem deutlich umschriebenen halbkreisförmigen, stark färbbaren Plasmabezirk befestigt sind, in dem ihre Enden sich zuweilen verfolgen lassen.“ Die Verdickung soll von der Geißelsubstanz chemisch verschieden sein. In der Mitte des Kernes liegen ein, meist mehrere Caryosome, die Vacuolen enthalten und von einem wabigen Gerüst umgeben sind, in dessen Knotenpunkten chromatische Körnchen liegen. Bei in Jodalkohol konservierten Individuen zieht sich die Kontur des Kernes häufig in Zipfel aus. Die Paramylonkörner zeigten bei Zusatz von 20 Proz. Formalin oder Pankreatin die bereits von BÜTSCHLI und KLEBS beschriebene Aufquellung und Schichtung.

Ein Pyrenoid wurde festgestellt. Eingehend wurde die Pellicula bei *Eugl. ehrenbergii* untersucht; sie weist schraubige Längsstreifung auf. In den Zwischenstreifen wurde eine feine Querstrichelung beobachtet. Die Angaben von KUNSTLER entsprechen nicht den tatsächlichen Verhältnissen. Ferner wurden Versuche über die chemische Natur der Cuticula und ihre Auflösung angestellt. Die Haut zeigt demnach keine Cellulosereaktion; sie besteht „aus zwei verschiedenen Substanzen, von denen die eine leicht verdaut wird, während die andere der Verdauung widersteht“. Entgegen KLEBS sollen die Spiralstreifen von den Zwischenstreifen chemisch, morphologisch und auch physiologisch verschieden sein. Die Substanz der Spiralstreifen erinnert an Albuminoide, etwa Keratin und Elastin; die Spiralstreifen sind wahrscheinlich die elastischen Elemente der Haut, die Zwischenstreifen sind kontraktiler Natur und bilden ein äußeres Skelet der Zelle. Die Spiralstreifen sind bei metabolischen Arten wenig ausgebildet. Verf. vergleicht einen durch Verdauung isolierten Spiralfaden mit einer Geißel; bei beiden ragt ein vom alveolären Saum freies Endstück hervor; beide enthalten einen Achsenfaden, der nach SCHUBERG auch bei den Cilien der Infusorien vorkommt. Auch zwischen den Pseudopodien von *Actinosphaerium* und den Geißeln von Euglenen sucht Verf. nahe Beziehungen wahrscheinlich zu machen. Weiter wurden die Stadien der Verquellung des Plasmasaumes bei den Geißeln verfolgt. Stets dienen elastische Fäden als Skelet für eine sie umgebende zähflüssige Substanz. KURT NÄGLER (Berlin).

Alexeieff, A., Sur les „Kystes de *Trichomonas intestinalis*“ dans l'intestin des Batraciens. Bull. Scient. France et Belgique, 7e Sér. T. XLIV fasc. 3 1911 p. 334—355, Tafel VIII.

Verf. berichtet zunächst über die über diesen Gegenstand existierenden Arbeiten in chronologischer Reihenfolge; besonders hervorzuheben sind die Arbeiten von PROWAZEK, PROWAZEK u. BOHNE, BENSEN. Bisher sollen die Bildung dieser Cysten und ihr weiteres Schicksal in keinem

Falle vollständig aufgeklärt sein. Verf. fand die fraglichen Cysten im Rectum verschiedener Arten von *Triton*, von *Salamandra maculosa* und von *Discoglossus pictus*. Wesentliche Verschiedenheiten der Cysten aus verschiedenen Tieren existieren nicht. — Zuerst werden die primären Cysten beschrieben (meistens aus *Triton cristatus*). Die Größenverhältnisse schwanken zwischen 6—35 μ im Durchmesser. Meist sind die Cysten ungefärbt. Es lassen sich in diesen primären Cysten drei Teile unterscheiden: die Gallertschicht, die peripherische Protoplasmazone mit Einschlüssen und Kernen, der innere Körper. Das Plasma ist ziemlich deutlich alveolär gebaut. Die Einschlüsse treten auch in Ringform auf: es handelt sich vielleicht um Reservestoffe. Die Kerne variieren an Zahl. Das Chromatin ist fast ausschließlich in einer peripherischen Kalotte lokalisiert und tritt auch in mehreren Granulationen auf. Die Kalotte ist vom Kernrest durch eine helle Zone getrennt. Bei der Kernteilung scheint sich die chromatische Kalotte in zwei Hälften zu teilen, die an polare Kernpole wandern. Die achromatische Substanz tritt zwischen beide, ohne eine Streifung zu zeigen. Der innere Körper ist homogen und besteht (mit PROWAZEK) aus Glykogensubstanz. Die primären Cysten können sich durch Zweiteilung fortpflanzen. Meistens entstehen so aus zweikernigen Cysten einkernige. Viel seltener findet multiple Cystenteilung statt, die zur Bildung von Sekundärcysten führt. Es findet dabei periphere Protoplasmaabschnürung statt, die Protoplasmamassen runden sich später ab und bilden die Sekundärcysten. Die Zahl der gebildeten Sekundärcysten schwankt zwischen 4 und Vielfachen von 4, bis zu 32. Synchron damit verlaufen die Kernteilungen. Der Durchmesser der Sekundärcysten beträgt 4—6 μ. Der Restkörper der Primärcyste verschwindet. Die Sekundärcysten zeichnen sich aus durch eine doppelt konturierte Membran, ferner durch exzentrische Lage des Kernes, der an der Membranausscheidung beteiligt ist. Eine Weiterentwicklung dieser Cysten wurde bisher noch nicht beobachtet. Anfangs vermutete Verf. Beziehungen der primären Cysten zu Ascomyceten, bis es ihm gelang, die analogen Übergangsstadien zu *Bodo lacertae* zu finden in *Salamandra maculosa*. Es wurden Bodinen beobachtet ohne Geißeln, ohne Basalapparat und endlich Formen mit zwei Kernen, die Verf. für Primärcysten dieses Flagellaten ansieht. Erst hierdurch wurden auch obige Primärcysten als zu *Trichomonas* gehörig erkannt. Verf. wendet sich noch gegen das „Chromidium“ PROWAZEK's und gegen die *Trichomonas*-Cysten von DOBELL, die mit den seinigen übereinstimmen sollen. KURT NÄGLER (Berlin).

Metcalf, M. M., Studies upon Amoeba. Journ. Exper. Zool. Baltimore IX No. 2 1910 p. 301—331, fig. 1—45.

Bei den Untersuchungen über die Lokalisierung der excretorischen Funktion bei *Amoeba proteus* handelt es sich darum, ob die kontraktile Vacuole bei ihrem jedesmaligen Wiederauftreten in derselben Plasmapartie erscheint. Alle kleinen Vacuolen, die auftreten und verschmelzen, liegen in einer Granulamasse oder daneben. Zwischen der Granulamasse und den excretorischen Vacuolen besteht eine bestimmte und konstante Beziehung. Die Granula liegen ständig an der inneren Oberfläche des Ectosarcs.

Es liegt eine beginnende Spezialisierung der Cytomicrosomen im Zusammenhang mit der Excretion vor. Die Granula werden um eine neue Vacuole erst gebildet und sind nicht wesentlich für die Funktion der Vacuole. Die Cytomicrosomen unterliegen einer Metabolie und bekommen später einen funktionellen Anteil an der Excretion. — Es folgt die Beschreibung einer neuen Amöbenart aus den Kaulquappen von *Bufo cinereus, Rana esculenta* und *Bombinator pachypus*, die Verf. *A. currens* nennt auf Grund ihrer starken aktiven Lokomotion. Die Angabe des Verf., daß er die Gattungen *Amoeba* und *Entamoeba* nicht unterscheiden möchte, ist vorläufig nicht recht begründet. — In dem Kapitel über einen Lebenscyklus bei Amöben beschreibt Verf. zunächst Flagellosporenbildung bei *A. proteus* (?). Es werden amöboide Gemmulae frei, die zu Flagellaten werden und weiterhin copulieren zu einer amöboiden Copula, die zum gewöhnlichen vegetativen Stadium heranwächst. Die Flagellatenstadien sind nach dem *Cercomonas*-Typus gebaut. Auf die Kernphänomene soll später eingegangen werden. Ob es sich um *A. proteus* handelt und ob die Phänomene nicht doch durch Parasiten hervorgerufen werden, bedarf weiterer Klärung. — Auch bei einer weiteren kleineren *Amoeba sp.* wird Gemmulation beschrieben, ferner netzförmige Amöbosporen einer Amöbe von Würzburg. Copulation wurde hierbei noch nicht beobachtet.

Kurt Nägler (Berlin).

Robertson, Muriel, Studies on Ceylon Haematozoa. II. Notes on the Life-Cycle of *Haemogregarina nicoriae* Cast. and Willey. Quart. Journ. of Micr. Sc. Vol. 55 1910 p. 741—762. (With plates 32—41 and one text-figure.)

In der vorliegenden Arbeit beschreibt die Verfasserin den Entwicklungskreis von *Haemogregarina nicoriae* Cast. and Willey, die im Blute der ceylonischen Schildkröte *Nicoria trijuga* vorkommt. Der Überträger ist ein Egel der Gattung *Ozobranchus* und hat von W. A. Harding den Artnamen *shipleyi* erhalten.

Im Blute der Schildkröte finden sich zwei Formen der Hämogregarine, eine bohnen- oder wurstförmige und eine lange geknickte. Beide Typen zeigen wenig Neigung, beweglich zu werden. Sie sind von einer zarten Kapsel umgeben. Der Kern zeigt eine periphere Anordnung der Chromatinbrocken um ein zentrales Binnenkörperchen, das eine Art Centrodesmose bei der Kernteilung bildet. Die Schizogonie findet auf zwei Arten statt. In der Lunge wachsen in den Capillaren Schizonten heran, deren Kernzahl nach fortgesetzter Teilung bis auf ungefähr 70 steigen kann. Die andere Art der Schizogonie findet sich in den roten Blutkörperchen. Dabei zerfällt der Schizont nur in sechs bis acht Merozoiten. Die Verf. glaubt, daß die Schizogonie in der Lunge asexuell ist, während die Schizogonie im kreisenden Blute Gameten liefert.

Durch den Magen des Egels gelangen die Hämogregarinen in den Darm. Hier finden sich bewegliche Formen, die sich nur schwer in Gruppen teilen lassen. Sie dringen in die Epithelzellen des Darmes ein. In der Darmwand findet die Befruchtung in der Weise statt, wie sie Siedlecki und Perez für *Adelea*-Arten beschrieben haben. Der Kern

des kleineren Microgametocyten teilt sich in drei oder vier Kerne, von denen einer in den Macrogameten eindringt, während die übrigen außen liegen bleiben und zugrunde gehen. Die Verschmelzung der Gametenkerne und die erste Teilung des Kernes des befruchteten Macrogameten hat die Verf. nicht beobachtet, was nicht zu verwundern ist, da sie die Stadien im Egel nur in Schnitten verfolgt hat. Aus dem befruchteten Macrogameten bilden sich acht Sporozoiten, die, wenn sie fertig entwickelt sind, den beweglichen Gameten im Egeldarmlumen sehr ähneln. Sie wandern in die Bluträume des Egels ein und werden wahrscheinlich von hier aus beim Saugen auf die Schildkröte übertragen. Im Rüssel des Egels hat die Verf. keine Sporozoiten gefunden.

Die Ergebnisse dieser Arbeit sind aus Präparaten gewonnen, die feucht fixiert und feucht weiterbehandelt worden sind. Sie decken sich in den Hauptpunkten mit denen der Reichenow'schen Arbeit über *Haemogregarina stepanowi*. W. Nöller (Berlin).

Fantham, H. B., The morphology and life-history of *Eimeria* (*Coccidium*) *avium:* A sporozöon causing a fatal disease among young grouse. Proceedings of the zoological society of London. Okt. 1910.

Fantham, H. B., Experimental studies on avian coccidiosis, especially in relation to young grouse, fowls and pigeons. Ibid.

Fantham, H. B., Observations on the blood of grouse. Ibid.

1. Die 7—10 μ großen sichel- oder wurmförmigen Sporozoiten sind vorn zugespitzt. Ihre Bewegung ist gleitend und wird wie bei Gregarinen durch Ausscheiden von Secret am Hinterende bedingt. (!) Nur wenn die Tiere sich schneller bewegen, tritt eine schlängelnde Bewegung hinzu. Der Kern ist kreisrund oder oval und von Chromatinkörnern erfüllt. Nach dem Eindringen in eine Epithelzelle rundet sich der Parasit zum „Trophozoiten" ab und wächst heran. Das Chromatin des Kernes sammelt sich nun in einem inneren Caryosom, das von einer Kernsaftzone umgeben ist. Die Wirtszelle wird schließlich fast ganz verdrängt. Durch öftere Zweiteilung oder durch multiple Kernteilung setzt die Schizogonie ein und verläuft dann in der bei *Cocc. cuniculi* schon beschriebenen Weise. Aus einem Schizonten entstehen 8—14, aber auch 20 Merozoiten, die von den Sporozoiten durch ihre plumpere Form und den Caryosomkern unterschieden sind. Die Bewegung geschieht in gleicher Weise.

Nach und nach werden die Schizonten kleiner und erzeugen nur wenige (4—5) aber größere Merozoiten, bis plötzlich die Gametogonie beginnt. Fantham faßt die Gametogonie als modifizierte Schizogonie auf, die dadurch entsteht, daß der Wirt für die Parasiten keine genügende Nahrung produzieren kann.

Macrogametocyten und Microgametocyten unterscheidet er erst lange nach dem Eindringen in eine Zelle. Jene besitzen große Brocken von Reservenahrung, diese sind von feinen Körnchen im Cytoplasma davon erfüllt. In den ersteren unterscheidet Fantham chromatoide Granula, die zur Cystenbildung verwendet werden und plastinoide Granula.

Aus den Microgametocyten entstehen, nachdem der Kern in hunderte Stücke zerfallen ist, ebensoviel 3—4 μ lange Microgameten. Diese haben

vorn eine bewegliche und hinten eine Schleppgeißel. Ein großer Restkörper mit Kernrest bleibt zurück. Die Microgameten schwimmen zur Micropyle der im Epithel oder schon im Darm frei liegenden Cysten. Der Kern des in der ovalen Cyste liegenden Macrogameten wandert ihnen entgegen, bis ein Microgamet eindringt und sich mit dem weiblichen Kern vereinigt. Manchmal kann man eine Spindel erkennen, doch sind die Einzelheiten der Befruchtung nicht zu beobachten, da es FANTHAM nicht gelungen ist, Cysteninhalt zu färben. Die Micropyle wird durch einen vom Macrogameten ausgeschiedenen Protoplasmapflock gegen weiteres Eindringen von Microgameten geschützt. Die Sporogonie beginnt mit dem Abkugeln des Cysteninhalts, aus dem dann vier Sporoblasten mit je zwei Sporozoiten entstehen.

Am Schlusse stellt FANTHAM die Unterschiede von *Eimaria avium* und *Eimaria schubergi* zusammen.

Infektionen von jungen Hühnern, Tauben und Fasanen mit Cysten des Birkhuhns verliefen positiv.

2. FANTHAM beschreibt die Sporogonie, die wie jene bei *Eim. stiedae* verläuft; er hat sie jedoch bei weitem nicht so genau beobachtet wie METZNER.

Sehr interessant sind seine Beobachtungen über den Einfluß des Alters, des Wassers, der Temperatur und gewisser Reagentien auf die Cysten.

Sehr genau gibt FANTHAM die Krankheitssymptome an:

Mattigkeit in den Bewegungen, Hängenlassen der Flügel, gesenkter Kopf und bleicher Kamm, Abnahme des Gewichtes und Abmagern der Muskeln bei gesteigertem Hunger und Durst. Darmentzündung und Diarrhoe, in dem viele Cysten sind. Auch im Ausfluß aus Augen, Ohren, Schnabel und Nase fand er Cysten. Junge Tiere wurden oft so schwach, daß sie gefüttert werden mußten.

Während nun beim Kaninchen außer dem Darmtractus besonders die Leber infiziert ist und man daher sehr viele Cysten in der Gallenblase findet, bleiben bei den Vögeln Niere, Milz, Leber und Gallenblase verschont; dafür ist öfters Kropf und Trachea infiziert.

Die Verfütterung zeigte, daß man mit den Cysten aus dem Kaninchen Vögel nicht infizieren kann; ein Beweis, daß *Cocc. avium* und *Cocc. cuniculi* zwei verschiedene Formen sind.

Durch Experiment wurde gezeigt, daß die Fliegen sehr zur Verbreitung der Krankheit beitragen.

Es wurden Eier von *Musca vomitoria* zum Kot kranker Vögel gelegt und FANTHAM fand dann in den Puppen Cysten von den Coccidien. Mit den ausgewachsenen Fliegen werden diese von den Vögeln gefressen, die sich dadurch infizieren.

3. In der dritten Arbeit „Observations on the blood of grouse" ist unter anderem der Einfluß der Coccidiosis auf das Blut der Vögel untersucht.

Die Vögel werden anämisch. Die roten Blutkörper nehmen an Zahl ab, wogegen die Zahl der polymorphonucleären Leucocyten um ca. 60 Proz. zunimmt.

REICH (Berlin).

Jennings, H. S. and **George T. Hargitt,** Characteristics of the diverse races of Paramaecium. Journ. of Morphol. Vol. 21 No. 4 1910 p. 495 —501.

JENNINGS hatte schon früher gezeigt, daß aus Stämmen von *Paramaecium aurelia* oder *caudatum* viele Rassen rein gezüchtet werden konnten. Unter den gleichen Umständen zeigte eine so entstandene Rasse eine charakteristische Größe und Form. Es blieb nach den früheren Untersuchungen offen, ob diese Rassen nicht nur in Größe und Gestalt sich unterschieden, sondern ob auch cytologische Einzelheiten in Frage kämen. Weiter mußte die Verwandtschaft dieser Rassen mit den alten Species *Paramaecium caudatum* und *aurelia* noch entschieden werden, da die vorigen Untersuchungen JENNINGS' zu keinem definitiven Resultat führten. Der erste Teil dieser Arbeit von HARGITT bespricht die cytologischen Eigenschaften einer jeden Rasse und untersucht die Verwandtschaftsverhältnisse der beiden vermeintlichen Species *aurelia* und *caudatum*. JENNINGS dagegen untersucht im zweiten Teil, ob die Größendifferenz in den reingezüchteten Rassen konstant ist, welche Formeigenschaften die einzelnen Rassen auszeichnen, ob sich das Eintreten der Conjugation und der Teilung in den einzelnen Rassen verschiebt, und weitere Fragen allgemeinerer Natur. HARGITT hat gefunden, daß unter den langen Paramäciumrassen sich zwei absolut verschiedene Typen finden, die sich durch die Zahl der Micronuclei unterscheiden. Nach ihm haben die größeren Rassen einen Micronucleus. Diese Rassen sind gewöhnlich als *Paramaecium caudatum* EHRENBERG angesprochen worden. Die kleineren Rassen haben gewöhnlich zwei Micronuclei. Man nennt sie meist *Paramaecium aurelia* MÜLLER. Außer der Zahl ist die eigenartige Struktur der Micronuclei in diesen beiden Species zu beachten. Selbst wenn die Zahl der Micronuclei nicht stimmt, so sollen doch nach HARGITT die Struktureigenschaften stimmen. Nach ihm finden sich keine Übergänge dieser beiden Formen. Daher ist es möglich, cytologisch *Caudatum*-Rassen von *Aurelia*-Rassen zu unterscheiden. Mit HARGITT stimmt JENNINGS in dem von ihm geschriebenen Teil überein, daß die *Paramaecium caudatum*-Gruppen einen einzigen Micronucleus, die *Paramaecium aurelia*-Gruppen zwei hätten. Außer diesen cytologischen Unterscheidungsmerkmalen behauptete JENNINGS bestimmt, daß die Längendifferenzen unter gleichen äußeren Verhältnissen in den beiden verschiedenen Rassen dieselben bleiben. Weiter haben die Individuen der *Caudatum*-Gruppe eine kleinere Breite im Verhältnis zur Länge. Weiter bleibt die hintere Spitze bei *Caudatum* erhalten, selbst wenn die Tiere sehr dick werden, während bei *Aurelia* dieser hintere Auszug verschwindet. Über die Unterschiede der verschiedenen Rassen in bezug auf ihre Conjugationsbereitschaft hat sich JENNINGS schon in einer früheren Arbeit ausgesprochen, die weiter unten referiert ist. Die Teilungsgeschwindigkeiten der verschiedenen Rassen unterschieden sich. In der Rasse L 2 z. B. zeigte das Individuum A eine andere Teilungsperiode als die abgeleitete Linie B. Diese ererbte Verschiedenheit in dem Teilungsrhythmus reiner Linien ist von

großem Interesse, und JENNINGS will dieses Ergebnis weiter verfolgen und in einer neuen kommenden Veröffentlichung behandeln.

Nach einer geschichtlichen Darstellung der Systematik von *Paramaecium aurelia* und *caudatum* bespricht JENNINGS allgemeinere Probleme und kritisiert an der Hand seiner Erörterungen die POPOFF'schen Experimente über die Zellgröße, ihre Fixierung und Vererbung und meint, daß die Entstehung neuer Zellgrößen eine so wichtige Erscheinung bedeute, daß nur die allerstrengsten Experimente dazu beitragen könnten, diese Frage zu klären. POPOFF hätte bei seinen Arbeiten eine Reihe von Vorbedingungen nicht erfüllt. Er kannte nicht die Stammesgeschichte seiner Zuchttiere und verfolgte die Abkömmlinge verschiedener Größe nicht lange genug. JENNINGS schließt seine Arbeit mit der Aufstellung sämtlicher Vorsichtsmaßregeln, welche zu befolgen notwendig sind, damit man wirklich mit reinrassigen Linien bei Paramäcien arbeitet und mit einer genauen Liste der Rassen oder Linien mit ihren Charakteristiken, welche in dieser Abhandlung besprochen sind. ERDMANN (Berlin).

Woodruff, L. L., *Paramaecium aurelia* and *Paramaecium caudatum*. The Journ. of Morphol. Vol. 22 Nr. 2 1911 p. 223—241.

Übereinstimmend mit dem Resultate von HARGITT und JENNINGS kommt auch WOODRUFF in dieser Arbeit zu dem Schluß, daß *Paramaecium aurelia* und *Paramaecium caudatum* im allgemeinen schon durch Form und Gestalt unterschieden werden können. Der Macronucleus von *P. aurelia* und *P. caudatum* verändert sich stark und gibt kein diagnostisches Merkmal ab. Dagegen zeigen die Micronuclei der beiden Species genügend verschiedene Charaktere, die ausgezeichnet zur strengsten Diagnose benutzt werden können. Nach dieser Untersuchung scheint es WOODRUFF richtig, *Paramaecium aurelia* O. F. M. und *Paramaecium caudatum* EHRENBERG als zwei gesonderte Species zu betrachten.

Die Trennung der beiden Species, die von MAUPAS und R. HERTWIG schon seit 1889 wieder stark betont wurde im Gegensatz zu früheren Untersuchern, ist 1906 von CALKINS angezweifelt worden. Die übereinstimmenden Untersuchungen von JENNINGS und HARGITT einerseits und von WOODRUFF andererseits lösen diese Frage wohl endgültig.

ERDMANN (Berlin).

Woodruff, L. L. and **George Alfred Baitsell,** The reproduction of *Paramaecium aurelia* in a „constant" culture medium of beef extract. Journ. of exper. zool. Vol. 11 Nr. 1 1911 p. 136—147.

WOODRUFF hatte in einer früheren Untersuchung gezeigt, daß Paramäcien, sowohl die Species *aurelia* wie *caudatum* in Heuaufgüssen nach einer bestimmten Anzahl von Generationen sterben. Jedoch traten diese Schwankungen im Lebenslaufe nicht auf, wenn das Kulturmedium gewechselt wurde und verschiedene Arten von Heuaufgüssen benutzt wurden. WOODRUFF stellte sich nun zur Aufgabe, ein passendes Kulturmedium zu finden, welches erlaubt, Paramäcien ohne Depressionen bis ins Unbegrenzte aufzuziehen. Ein solches günstiges Medium ist eine schwache

Fleischextraktlösung. Liebigs Fleischextrakt ist merkwürdig konstant in seiner chemischen Zusammensetzung und geeignet zu experimentellen Arbeiten. Am 1. Oktober 1910 wurden die Kulturreihen, deren Stammbaum bekannt war, angefangen, die eine in stets wechselnden Heuaufgüssen, die andere in Fleischextraktlösungen. Jeden Tag wurde ein Tier der letzten Versuchsreihe isoliert und in ein neues Volumen der ursprünglichen Lösung gesetzt. Der Versuch sollte 7 Monate dauern, weil CALKINS ausgesprochen hatte, daß in Heuaufgüssen gezogene Tiere nicht länger als 6 Monate, ohne zu degenerieren, leben könnten. Die Teilungsraten von zwei verschiedenen Kulturreihen, die alle von derselben Stammkultur sich herleiten, zeigten ungefähr gleiche Ergebnisse.

Verf. hält seine Ansicht aufrecht, daß die Zusammensetzung des gewählten Mediums, nicht der Wechsel in den Kulturmedien verantwortlich zu machen ist für die unbegrenzte Entwicklung ohne Conjugation oder ohne künstliche Stimulation. Doch sagt der Verf., daß man schwache und starke Stämme unter derselben Species von Infusorien unterscheiden muß und es nicht immer möglich ist, unbegrenzte Generationen zu erzeugen, ohne daß der Stamm stirbt.

ERDMANN (Berlin).

Woodruff, L. L., The effect of excretion products of paramaecium on its rate of reproduction. Journ. of exper. zool. Vol. 10 Nr. 4 1911 p. 558—581.

WOODRUFF prüft in dieser Arbeit die Wirkung von verschieden großer Volumina der Kulturflüssigkeit auf die Lebenserscheinungen der Paramäcien und die Einwirkung von Excretionsprodukten auf das Teilungswachstum der Paramäcien. Er kommt zu folgenden Schlüssen, die er bei Paramäcien gewonnen hat, deren Lebensgeschichte vollständig bekannt ist und die reinrassig sind: Die Teilungsgeschwindigkeit von *Paramaecium aurelia* und *caudatum* wird durch die Masse des Kulturmediums bestimmt und je größer das Volumen des Kulturmediums ist, desto schneller erfolgt die Teilung. Die Excretionsprodukte von *Paramaecium* haben einen Einfluß auf das Aufhören von Teilungen.

ERDMANN (Berlin).

Jennings, H. S., What conditions induce conjugation in paramaecium. Journ. of exper. zool. Vol. 9 Nr. 2 1910 p. 219—230.

JENNINGS stellt folgende Tatsachen fest, die große Bedeutung für die experimentelle Arbeit mit *Paramaecium* haben. Verschiedene Rassen von *Paramaecium* — seien es von *aurelia* oder *caudatum* — conjugieren häufig, andere Rassen conjugieren unter denselben Bedingungen selten oder nie. Es ist möglich, daß der Zwischenraum zwischen zwei Conjugationsperioden einer Rasse sehr kurz sein kann, vielleicht 2—4 Wochen. In anderen Rassen kam Conjugation nur in Zwischenräumen von einem Jahr vor. Im Einverständnis mit ENRIQUES kommt JENNINGS zu dem Schluß, daß baldige Wiederconjugation in der Nachkommenschaft eines einzigen In-

dividuums möglich ist. Nach vier Teilungen conjugieren die Nachkommen von einem Exconjuganten.

Die äußeren Umstände, welche Conjugationen begünstigen, faßt der Autor so zusammen: Nicht durch die Wirkung des Hungers, sondern nach einer Periode von Nahrungsmangel, nachdem vorher ein außerordentlicher Reichtum von Nahrung gegeben worden ist, die eine rasche Vermehrung erzeugt, tritt Conjugation ein. Bei den Rassen, welche nicht so schnell conjugieren, meint JENNINGS, könne der Einfluß der äußeren Eigenschaften zwar etwas verschieden, doch im allgemeinen ähnlich wirken. Morphologische Charaktere scheinen nicht charakteristisch zu sein, um die Verschiedenheiten in der Bereitwilligkeit der einzelnen Rassen, zu conjugieren, zu erklären. Die größten und die kleinsten Rassen conjugierten selten. Am häufigsten fand dies Ereignis bei mittelgroßen Paramäcien statt. Auch Rassen mit zwei Micronuclei conjugieren im allgemeinen schneller. Übereinstimmend mit dem Resultate von WOODRUFF und ENRIQUES findet JENNINGS, daß der Eintritt der Conjugation kein Resultat der senilen Degeneration am Ende eines Lebenscyclus ist.

ERDMANN (Berlin).

Enriques, P., La conjugazione ed il differentiamento sessuale negli infusori. III. Azionedei sali sulle epidemie di conjugazioni nel cryptochilion nigricans. Academia della scienza Bologna. 1910. p. 1—39.

Der Verf. schildert in dieser breit angelegten Arbeit den Einfluß, welchen verschiedene Salzlösungen auf die Conjugationsbeschleunigung bei Infusorien haben. Er hatte zu seinem Versuchstier *Cryptochilion nigricans* gewählt und in genau abgemessenen Flüssigkeitsquanten bei genau abgepaßter Nahrung den Zeitpunkt des Eintretens der Conjugation studiert, nachdem die Tiere in die verschiedensten Salzlösungen gesetzt worden sind. Die Konzentration der Lösungen bewegt sich im allgemeinen von $^1/_4$ Normallösung bis zu $^1/_{12000}$ Normallösung. Zuerst mußte festgestellt werden, welche Lösungen überhaupt noch geeignet waren, lebende Cryptochilien zu erhalten. Es zeigte sich, daß sehr starke Konzentrationen der Chloride, Bromide und Jodide weder wachstumsbeschleunigend, noch conjugationsauslösend wirkten. Die starken Lösungen führten oft zum Tode der Versuchstiere.

Beide Eigenschaften, wachstumsbeschleunigend und conjugationsbeschleunigend zu wirken, entsprechen sich durchaus nicht; denn ENRIQUES kommt zu folgendem Schluß: der Konzentrationsgrad der Lösung hat eine günstige Wirkung auf die Entwicklung und auf die Conjugationsbereitschaft von Cryptochilien. Teilweise scheint die Wachstumsbeschleunigung mit dem schnelleren Eintreten der Conjugation zusammenzuhängen, aber es zeigt sich doch eine bestimmte Unabhängigkeit zwischen Wachstumsbeschleunigung und Conjugation, wenn man die einzelnen Salze betrachtet.

Aus den übersichtlichen Tabellen schließt der Verf., daß Crytochilien, welche aus ihrer Nährlösung in destilliertes Wasser gesetzt werden, kaum Conjugationsepidemien erzeugen. Chloride, Bromide und Jodide dagegen haben eine ausgesprochene Neigung, die Conjugation hervorzurufen, und die Stärke dieser Neigung geht parallel mit der Stellung der

Hallogene in dem periodischen System der Elemente; oder man kann dies auch nach dem Verf. ausdrücken, daß die Giftigkeit — was sich besonders beim Jod zeigt — die Conjugationsbereitschaft anregt, indem das Wachstum gehindert wird. Auffallend und überraschend ist die Empfindlichkeit der Cryptochilien für Kalk- und Eisensalze, welchen Chlornatriumlösungen zugefügt sind. Besonders schwache Dosen von Eisenchlorid wirken conjugationsbeschleunigend.

Eine Menge Kontraste, welche sich in der Vermehrung oder Verminderung der Teilungsgeschwindigkeit und der Conjugationsbeschleunigung zeigen, enthüllen, daß die Konzentration der Salze im allgemeinen und bestimmter Salze einen direkten spezifischen Einfluß auf das Conjugationsphänomen haben. Dieser Einfluß hängt nach Meinung des Verf. nicht von dem Einfluß der Bakterien in der Kultur, sondern von dem Zustand der Infusorien selbst ab.

Trotz der schwierigen und zeitraubenden Untersuchungen, trotz des großen Tatsachenmaterials zieht doch der Verf. keine allgemeineren Schlüsse. Er ist weit davon entfernt, irgendeine allgemeine Regel aufzustellen und glaubt, daß weder die physikalischen, noch die chemischen, noch die chemisch-physikalischen Eigenschaften der Salze verantwortlich für die von ihm gefundenen Resultate gemacht werden können.

Erdmann (Berlin).

Paraspirillum vejdovskii n. g. n. sp., a new bacterial form.

By

C. Clifford Dobell,

Fellow of Trinity College, Cambridge; Lecturer at the Imperial College of Science, London, S. W.

(With plate 8 and 7 text-figures.)

The subject of this paper is a remarkable organism which I encountered in a culture of freshwater Cyanophyceae. Although it appears undoubtedly to be allied to the Bacteria belonging to the genus *Spirillum* Ehrbg., it nevertheless presents certain features which are so unusual that it seems to me to merit a detailed description, and to call for the creation of a new generic name. The chief features which distinguish this organism from an ordinary *Spirillum* are its flexibility and its nucleus. I shall describe these and other characters of this form in the following pages.

I have called the organism *Paraspirillum vejdovskii* nov. gen. nov. spec. — the specific name being in honour of my friend Prof. Vejdovský, who has long maintained that the Bacteria are nucleate organisms.

Occurrence.

I have only once encountered this organism, and have never seen any other similar form. It occurred in comparatively small numbers in a culture of freshwater *Oscillatoriae* obtained from the River Granta above Cambridge. After living in this culture for a few days, the organisms disappeared completely, and many other

Bacteria began to flourish in their place. In five other similar cultures of other *Oscillatoriae* taken from different parts of the river at the same time, they never made their appearance.

I have, therefore, been forced to content myself with a comparatively small amount of material. Yet in spite of this, by exercising great care and patience, I have been able to discover much that is of interest in this organism. My observations are naturally incomplete, but they appear to me to be worthy of recording as I can foresee no likelihood of obtaining a further supply of material in the near future.

General Structure.

The structure of *Paraspirillum* can be seen with great distinctness in the living organism — provided, that is, that a good immersion lens and proper illumination be used. All the chief features of the organism can be made out with almost as great precision as in fixed and stained specimens.

The living organisms (plate 8 figs. 1—6) are, for the most part, in the form of spiral or S-shaped rods, very like ordinary spirilla. Short individuals (fig. 5) are about 8 μ in length, the largest individuals (fig. 6) attaining a length of about 25 μ. The average length is about 15 μ. In breadth, the organisms vary somewhat. They usually show a well-marked thickening towards the middle of the body (figs. 2, 4 etc.) and taper off markedly towards the ends. On this account, the shape of the organisms may most correctly be described as a much elongated and spirally twisted spindle. This peculiar conformation is not distinctly seen in all organisms, but is characteristic of the great majority, giving rise to an appearance which is not seen in *Spirilla* — at least in those which I have studied. In the middle region, the organisms measure from ca. 1,5 μ to 2 μ across — the thickness varying in different individuals.

In every individual, an oval or rounded structure can be clearly seen, lying in the middle of the organism at the point where the body is thickest (cf. figs). This structure, as will be seen later, is undoubtedly a n u c l e u s. The cytoplasm immediately surrounding it, is always hyaline, or very finely granular — but quite free from any granular inclusions (cf. figs).

Outside this area of clear cytoplasm — that is, in the region between it and the ends of the organism — a number of highly refractive granules, of variable size and distribution, can always

be seen. These granular inclusions are metachromatic granules (volutin), similar to those which occur in a large number of other Bacteria. (See DOBELL 1911.) I shall therefore refer to them by this name.

The general form of the body, the nucleus, and the metachromatic granules, are the chief morphological features observable in the living organism. I have not been able to make out any alveolar or other structure in the cytoplasm before fixation.

Intravital staining with neutral red has furnished some additional information regarding the internal structures. This will be described below (see p. 102). I will now pass to a description of the highly characteristic movements of this organism.

Movements.

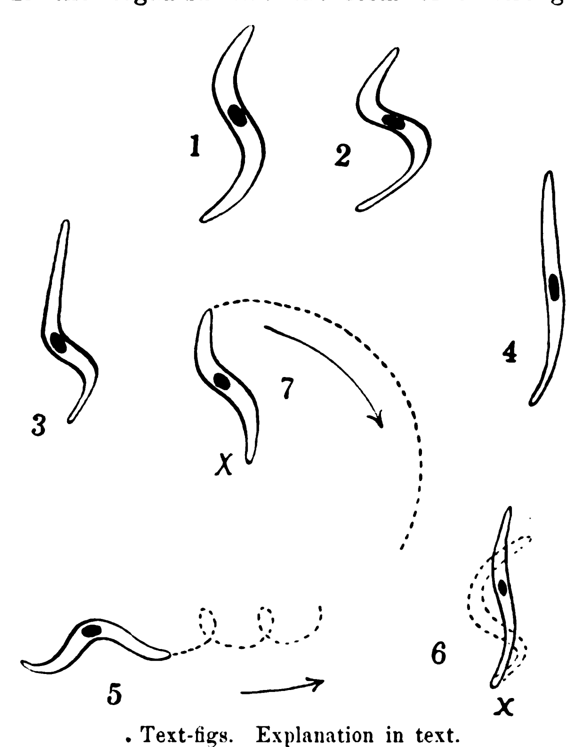
All normal individuals are actively motile. Their movements may be most easily described with the aid of a diagram, (see text-figs).

Locomotion is effected in the screw-like manner characteristic of *Spirilla*. The organism remains in the form of an apparently rigid spiral, and then moves rapidly with screwlike movements in the direction of the long axis of the body. I have indicated this in text-fig. 5 -- the dotted line representing the spiral path followed by the end of the organism. After moving in the same direction for a variable distance, the organism may frequently be seen to stop, and then reverse its motion and screw itself back in the opposite direction. These movements are similar to those which can be seen in any *Spirillum*. It follows, therefore, that — like a *Spirillum* — *Paraspirillum* possesses no antero-posterior polarity (cf. DOBELL 1911 a) — either end being a facultative anterior or posterior end.

Another frequently observed movement is that shewn in text-fig. 7. The organism remains fixed at one end (x) and then rotates round this point — the free end following a path (dotted line) which is an arc of a circle. Sometimes a complete revolution round the fixed point may be accomplished in this manner, but more usually the free end, after progressing for some way in the direction indicated by the arrow, goes back again, in the opposite direction, to the point from which it started. Organisms often oscillate in this manner for many minutes. Finally, however, they dart off in some direction, with characteristic screw movements.

I have already said that the body, during the performance of

its screw-like movements, appears to be rigid. One of the most noteworthy features of this organism, however, is its ability to bend itself. It can assume the form of a very strongly curved spiral (text-fig. 2), or can straighten itself out until it becomes almost rod-like (text-fig. 4). Intermediate forms of every degree also occur (cf. text-figs. 1, 3). It follows, therefore, that the path followed by the organism in going from place to place is not always the same. If the organism has the form of a strongly curved spiral (e. g. text-fig. 2) it makes many more revolutions in travelling a certain distance than it would when travelling the same distance in the form of a much drawn-out spiral (e. g. text-fig. 4). This constitutes one of the most striking features which these organisms show. In the same field of the microscope, individuals may be seen moving rapidly with many revolutions, side by side with others moving slowly with comparatively few revolutions — the movements depending upon the degree of curvature possessed by the organism. These different methods of locomotion can be observed, moreover, in the same organism at different times.



. Text-figs. Explanation in text.

I have never seen an organism which was not of a spiral form — that is, one completely straightened into a rod. Even the most nearly straight organisms have a slight spiral twist, and always move along a spiral path — never in a straight line.

Bending of the body may often be seen in organisms which have attached themselves by one end to some solid body. This is shewn diagrammatically in text-fig. 6. An organism is seen attached

by the end marked x. It then slowly contracts its spiral body into the position shown by the dotted outline. After remaining in this position for some time, it often returns to the original protracted condition. Bending movements of this sort frequently accompany the oscillating movements already described. Neither movement is performed rapidly, as a rule, so that both can be easily observed.

Intrinsic body movements of the sort just described in *Paraspirillum* are never seen in *Spirilla.* The forms of the latter which I have studied always remain quite rigid, and consequently the spiral path followed in locomotion is always of the same amplitude.

Flagella. — Movement from place to place is effected by means of flagella, similar to those of common spirilla. In the living organisms. I have never succeeded in seeing any flagella, but their movements and the swirl of the water at their extremities leaves no doubt that these structures must be present. I have succeeded in demonstrating the flagella in the following way: A wet film containing many organisms was fixed in sublimate and acetic acid (saturated solu. $HgCl_2 + 5\,\%$ acetic). It was then stained very deeply by Heidenhain's iron haematoxylin method — both iron alum and haematoxylin solution being allowed to act for many hours. The film was then washed in water, and mounted in balsam in the usual way, without being differentiated in the iron alum solution.

All Bacteria and other organisms in this preparation were stained very deeply. In many *Paraspirilla* it could be clearly seen that there was an apparently single and excessively delicate flagellum at either end of the organism (pl. 8, figs. 10 and 11). Some individuals showed only a single flagellum at one end (fig. 9) but many showed two and others showed none that could be made out distinctly. It is probable, I think, that every individual possess two flagella, one at either end, although they cannot always be clearly seen in stained preparations. Occasionally, one or both flagella can be distinguished in iron-haematoxylin preparations which have been differentiated in the usual way (cf. fig. 18), but as a rule such preparations show no traces of these structures.

It will be seen, therefore, that in the arrangement of its flagella, *Paraspirillum* resembles many other spirilla.

The Nucleus.

As I have already pointed out, a nucleus is present towards the centre of every individual, and can be seen distinctly in the

living organism. I have been able to study its structure more minutely in carefully fixed and stained preparations.

If a very small quantity of an aqueous solution of neutral red be added to a drop of water containing the organisms, the following points can be observed. After a very short time, the metachromatic granules are coloured red (pl. 8 fig. 7). At first some of the granules do not take up the colour, though most of them are strongly stained. Later, however, all the granules are seen to be coloured. The nucleus remains colourless, and the organisms up to this stage are actively motile.

After the neutral red has acted for some time, the organisms become less active and finally cease to move. They then die, and undergo various degenerative changes. Hand in hand with the loss of motility there is an increased amount of staining observable. The cytoplasm becomes pink, and the nucleus also begins to take up the stain. Finally, the whole organism undergoes a very pronounced intramortal staining — the cytoplasm being pink, the metachromatic granules and nucleus deep red (fig. 8). The nucleus is thus very clearly differentiated. It behaved towards the stain in exactly the same way as the nuclei of minute amoebae and flagellates in the same preparations.

Many intramortally stained organisms show a marked vacuolation of the cytoplasm, and also appear somewhat swollen [1]) (fig. 8).

In order to study the structure of the nucleus in detail, I made wet coverglass film preparations of the organisms, and fixed them with Bouin's picro-formol-acetic fluid or with sublimate and acetic acid. I chiefly used Bouin's fluid, because I know from past experience with Bacteria, Cyanophyceae and other protists that it is an excellent fixative for both nuclei and metachromatic granules. I subsequently stained these films with Heidenhain's iron-haematoxylin, methylene blue, or Giemsa's stain. Preparations stained in the last two ways were treated as wet films until they had been stained. They were then washed and allowed to dry, being finally mounted in cedar oil. Preparations stained by the other method (Heidenhain) were treated as wet films throughout — no drying being allowed to take place at any stage in the proceedings. By all of these methods I obtained very good preparations. Wet films were made in the following way. Carefully cleaned coverglasses were floated on the surface of the culture, being allowed to remain for a variable

[1]) This appearance is slightly exaggerated in the figure given in the plate.



time — usually several hours. On removal, they were found to have many Bacteria (including *Paraspirilla*) adhering so well to the under surface, that they could easily be fixed and stained without falling off.

In the Bouin-Heidenhain preparations, the nucleus was very well seen in every individual examined (figs. 14—18). It was frequently seen to have a round or oval form (figs. 15, 17) but also frequently appeared square or oblong (figs. 14, 16, 18). It often appeared to occupy the whole width of the organism (fig. 14).

In most individuals, the nucleus was deeply stained, and appeared quite homogeneous (fig. 17 etc.). In others, however, a karyosome could be quite distinctly seen (figs. 15, 16). Such organisms suggest that the nucleus is probably a vesicular structure, and not merely a homogeneous mass of chromatic substance. The appearance of organisms like that depicted in fig. 16 also suggests strongly that a nuclear membrane may be present.

In preparations fixed with Bouin's fluid and stained with methylene blue, the nucleus in every individual is stained deep blue — being thus clearly differentiated from the red metachromatic granules. (figs. 12—13.)

Organisms fixed with Bouin's fluid and stained by Giemsa's method presented an appearance as shown in figs. 19—22. The nucleus in each individual is red. I have been unable to distinguish a karyosome in any organisms stained with either Giemsa or methylene blue.

It has already been noted that the body is broadest, as a rule, at the central point where the nucleus is situated. This region of the cytoplasm in broad individuals frequently presents a curious appearance, owing to the fact that it takes up the chromatic stain to a greater or less extent, (figs. 13, 17, 21). This is most striking in Giemsa preparations, in which the whole of this region of the cytoplasm may be stained red (fig. 21). The interpretation to be given to this is not certain. (See p. 105.)

Nuclear Division. — *Paraspirillum* divides transversely into two daughter organisms — in a manner which appears to be identical with that of ordinary *Spirilla.* The division of the body as a whole is preceded by the division of the nucleus. I found very few individuals undergoing division, and have not been able to observe nuclear division in the living organism, though I made many attempts to do so. Unfortunately, the organisms lived for only a few hours in slide preparations — whether in a hanging drop or under a sealed

down coverglass. By carefully searching through my fixed and stained preparations, however, I have been able to find a number of stages in nuclear division.

The first stage of nuclear division is shown in fig. 23. The originally oval nucleus (cf. fig. 17) undergoes a constriction in a plane at right-angles to the long axis of the body. It thus presents the double appearance seen in fig. 23. The two parts then separate to a short distance, but remain attached by a short strand of nuclear material, thus giving rise to a dumb-bell figure like that seen in fig. 24. The connecting strand then vanishes, and the two daughter nuclei appear as deeply stained, completely separate, somewhat hemispherical masses (figs. 25, 29, 28). These then draw further apart (figs. 28, 26) and constitute the nuclei of the new daughter-individuals (fig. 30). Presumably these nuclei then separate still further from one another, and fission of the body then occurs in a manner similar to that occurring in ordinary *Spirilla*. Unfortunately, I have been unable to find in my permanent preparations a single stage intermediate between that shown in fig. 30. and that in fig. 27. At this later stage, the daughter individuals are fully formed, but still just joined. The darkly stained contiguous ends are exactly like those seen in newly divided *Spirilla*.

Relatively very few dividing organisms were to be found in my stained preparations. After searching through these very carefully, and examining some thousands of individuals, I succeeded in finding only about twenty individuals in the stages like those shewn in figs. 23 and 24: about eight in the stages seen in figs. 29, 25, 28: only three in the stage seen in fig. 26: only three also in the stage of fig. 30: four in the stage of fig. 27: and, as already noted, no organisms intermediate between the last two stages. Searching through the preparations was a very laborious task, as only a few good preparations contained the organisms in large numbers, and all of them contained many other Bacteria. Notwithstanding, I believe I have succeeded in making out the chief features of division with accuracy.

As far as can be judged, from its very small size, the nucleus appears to divide amitotically.

Metachromatic Granules.

Reference has already been made more than once to the metachromatic granules. I will here add a few more details concerning them.

The behaviour of these granules towards stains leaves no doubt as to their nature.[1]) As already recorded, they stain with neutral red when employed as an intravital or intramortal stain (p. 102). They also behave in a characteristic manner when treated with methylene blue. With this stain, they show typical metachromatic staining, being coloured r e d (figs. 12, 13), whereas the chromatic substance of the nucleus is coloured blue. With GIEMSA's stain, they are coloured red or pink, usually not so darkly as the nucleus. (See figs. 19—22, etc.) After fixation with BOUIN's fluid, and staining with HEIDENHAIN's iron-haematoxylin they are at first deeply stained: but they give up the stain on differentation more readily than the nucleus, so that in well differentiated preparations (cf. figs. 14—18 etc.) they are mostly colourless, whilst the nucleus remains deeply stained. They behave in exactly the same manner as the matachromatic granules which I have studied in many other Bacteria, in Cyanophyceae, in yeasts, and in Bacillariae.

The distribution of the metachromatic granules in the individual has already been noted. As they are confined to the ends of the organism, there is, — even apart from their staining reactions — no possibility of confusing them with the nucleus, either in living or fixed and stained organisms.

It remains to be added that the granules — as in other Bacteria -- vary considerably both in size and numbers. They may be few or many, large or small. Some times they are of very large size, as is seen in the organism shown in fig. 13.

The cytoplasm in which the granules are embedded shows no distinct structure in the living organisms or in those in wet films (BOUIN and HEIDENHAIN), as will be seen from the figures. In individuals which are stained by GIEMSA's method or with methylene blue, however, the cytoplasm shows a very clear alveolar structure (figs. 12, 19—22, 28—30). This is perhaps due to the drying which (as explained on p. 102) was allowed to occur after staining. It is also noteworthy that these organisms also appear more slender than those treated by a wet method throughout. No doubt this is caused by a certain amount of shrinkage taking place in the process of drying.

I have already called attention to the fact that the cytoplasmic area immediately surrounding the nucleus is often deeply stained

[1]) Concerning them, see my paper on the Cytology of Bacteria (DOBELL 1911), where a discussion and references to the literature will be found.

with the chromatin stain (see figs. 13, 17, 21). A possible interpretation of this is the following. Metachromatic granules ("volutin") are reserve food bodies which possess many staining and other properties characteristic of chromatin. It is possible, therefore, that they are directly formed by the transformation of nuclear chromatin. In the Cyanophyceae they arise directly inside the nucleus, and their formation seems to be closely connected with the nucleus in yeasts and some other protista. I would suggest that chromatic material at times flows out of the nucleus, travels through the clear cytoplasmic region surrounding this body, and is then transformed into metachromatic granules in the regions where these products are stored. This would give a reason why the cytoplasm surrounding the nucleus sometimes, but not always, stains as though it held chromatin. It would also explain how it is that a metachromatic granule lying at the edge of the clear region may stain more deeply than the remainder (see figs. 16, 18, 27) — which is very commonly seen in Heidenhain preparations. However this is merely a hypothesis.

Concluding Remarks.

From the description of *Paraspirillum vejdovskii* which I have just given in the preceding pages, it will be evident that this protist must be classified with the Bacteria. It appears to be closely allied to the *Spirilla*, from which it differs, however, in several ways. The points of difference appear to me to be sufficiently well marked for it to be desirable to create a new generic name for this organism. I know of no other form — either from my own experience or from the literature — which is closely similar.

Doflein (1911) in a recent paper has briefly described an organism which he calls an "eigenartiger Organismus, welcher wohl in die Nähe der Schwefelbakterien gehört", and which he found "im Moorwasser der oberbayerischen Hochebene." The general outline of the body, as shown in his figures (p. 32), appears very like that of *Paraspirillum*, but its movements appear to be quite different. No nucleus is recorded, and no information is given concerning its structure. The two figures (fig. 15) "nach gefärbtem Präparat" afford but little information on this point, as it is not stated how this preparation was made, and what the granules in the organisms are supposed to represent. Furthermore, sufficient reason is not given for regarding this form as an "Organismus aus der Gruppe der "Schwefelbakterien"" especially when it is stated that it undergoes

most remarkable changes in shape, moves like a spirochaet, and "beim Auftrocknen [1]) zerfloß er wie ein Protozoon"!

It appears, therefore, that this remarkable organism belongs to the Bacteria, but possesses characters peculiar to Spirochaetoidea and Protozoa. It is to be hoped that further information about it will be soon forthcoming.

The movements of *Paraspirillum* differ from those of a *Spirillum*, and also considerably from those of any member of the Spirochaetoidea. In *Spirilla*, the body is always rigid, and this has been very frequently cited as a character which serves to distinguish these organisms from the Spirochaets.

I have already pointed out (Dobell 1908, 1911) that there are many Bacteria which are able to bend themselves, and that consequently this character cannot be regarded as one which enables us to draw a sharp distinction between Bacteria and Spirochaetoidea (Dobell 1911 a). All the flexible organisms which I have previously described are *Bacilli*, but in *Paraspirillum* we now have a spirillar form also which is capable of bending.

It will not be necessary to enter here into a detailed discussion of the nucleus of Bacteria, as I have recently done so fully elsewhere (Dobell 1911). I have pointed out that at least three different nuclear arrangements occur in *Spirilla* — the nucleus being in the form of chromidia, of a spiral filament, or of a single small spherical body. This last condition I have shown to exist in a very small *Spirillum* which is often present in the hind-gut of the common cockroach (*Stylopyga orientalis* L.). As far as the very small size of this organism permits me to judge, I think its nucleus is closely similar to that of *Paraspirillum vejdovskii*, — though on a smaller scale.

From its morphology, its method of division, and its staining reactions I think there can be no doubt that the structure which I call a nucleus in *P. vejdovskii*, is really such a structure. I believe, in fine, that this organism furnishes us with yet another bacterial form in which a nucleus has been proved to be present.

London, July, 1911.

---

[1]) This is not the case with *Paraspirillum*, which possesses a wellmarked membrane round its body.



Literature References.

Dobell, C. C. (1908): "Notes on some parasitic Protists." Quart. Journ. micr. Sci. Vol. 52, p. 121.

— (1911): "Contributions to the cytology of the Bacteria." Ibid. Vol. 56, p. 395.

— (1911a): "On Cristispira veneris n. sp. and the affinities and classification of Spirochaets." Ibid. Vol. 56, p. 507.

Doflein, F. (1911): "Probleme der Protistenkunde. II. Die Natur der Spirochäten." Jena (Fischer).

Explanaton of Plate 8.

All the figures are of *Paraspirillum vejdovskii* n. g. n. sp. They are drawn with the aid of a Zeiss 2 mm apochromatic oil-immersion (apert. 1,40), and compensating oculars 6, 12, and 18. All figures are drawn at a magnification of ca. 2000 diameters.

Figs. 1—6. Living organisms — various forms. The nucleus and metachromatic granules are clearly seen.

Fig. 7. Living organism stained intravitam with neutral red. Most of the metachromatic granules are stained. Organism still motile.

Fig. 8. Non-motile organism, after intramortal staining with neutral red. Nucleus and metachromatic granules stained.

Figs. 9—11. Organisms from a wet film fixed in sublimate and acetic acid and deeply stained with Heidenhain's iron-haematoxylin — showing flagella.

Figs. 12—13. Organisms from a wet film preparation (Bouin, methylene blue) showing nuclei (blue) and metachromatic granules (red) clearly differentiated.

Figs. 14—18. Organisms from a wet film preparation (Bouin, Heidenhain), showing various forms. Nuclei deeply stained, metachromatic granules mostly colourless.

Figs. 19—22. Organisms from a wet film preparation (Bouin, Giemsa). Nuclei and metachromatic granules red.

Figs. 23—26. Stages in nuclear division. (Wet film, Bouin and Heidenhain).

Fig. 27. Late stage in division: daughter individuals fully formed, but still attached. (Wet film, Bouin and Heidenhain).

Figs. 28—30. Stages in nuclear division. (Wet film, Bouin and Giemsa.) In fig. 30 the daughter nuclei are completely separated, but the organism is still undivided.

Zur Nomenklatur der *Spirochaeta pallida* Schaud. u. Hoffm.

Von
Dr. J. Gross.

Der von Schaudinn entdeckte, jetzt wohl allgemein als solcher anerkannte Erreger der Syphilis trägt in der Literatur nicht weniger als 5 verschiedene Genusnamen: *Spirochaeta* (Schaudinn und Hoffmann 1905), *Spironema* (Vuillemin 1905), *Microspironema* (Stiles und Pfender 1905), *Treponema* (Schaudinn 1905) und *Spirillum*. Bei einem Organismus von so hoher praktischer Bedeutung ist eine derartige, in Zoologie und Botanik leider nicht seltene Vielnamigkeit natürlich besonders mißlich; es soll daher mit vorligendem Aufsatz nochmals der Versuch gemacht werden, Wandel zu schaffen und Einhelligkeit in der Bezeichung der „*Pallida*" herbeizuführen, wie ich das bereits in einer früheren Arbeit (Gross 1910) angestrebt habe.

Ich zeigte damals, daß das alte von Ehrenberg (1838) aufgestellte Genus *Spirochaeta* [1]) in dem neuerdings von den meisten, sowohl medizinischen als auch zoologischen und botanischen Autoren beliebten Umfang nicht aufrecht erhalten werden kann. Vielmehr dürfen zu ihm nur die großen, freilebenden Formen *S. plicatilis* und *S. gigantea* gerechnet werden, deren grundsätzliche Verschiedenheit von ihren bisherigen Gattungsgenossen auch durch die neuesten Untersuchungen von Zuelzer (1910) bestätigt worden ist. Für die sog. „Muschelspirochäten", ausgezeichnet durch einen bisher meist als „undulierende Membran" bezeichneten Kamm, die „Crista",

[1]) So und nicht *Spirochaete*, wie man so oft liest, lautet der von Ehrenberg geschaffene Name.



stellte ich das neue Genus *Cristispira* auf. Für die kleinen pathogenen Formen, also auch die *S. pallida,* und ihre nächsten, ebenfalls parasitischen Verwandten akzeptierte ich den von Vuillemin (1905) vorgeschlagenen Genusnamen *Spironema.*

In einer bald nach der meinigen erschienenen Arbeit erklärt sich Dobell (1911) mit der von mir vorgeschlagenen Dreiteilung des Genus *Spirochaeta* einverstanden, nimmt auch den Namen *Cristispira* für die „Muschelspirochäten" an, macht aber darauf aufmerksam, daß der Name *Spironema* präokkupiert sei, da Klebs (1892) ihn bereits für ein Flaggellatengenus vergeben hat. Dobell schlägt daher vor, an seiner Stelle den von Schaudinn (1905) für die *Sp. pallida* geschaffenen Genusnamen *Treponema* wieder einzuführen und für die ganze Gruppe der pathogenen Formen und ihrer nächsten Verwandten zu verwenden.

Bevor ich daran gehe, die Berechtigung der von Dobell erhobenen Bedenken zu prüfen, möchte ich zunächst einen älteren Einwand gegen die Zulässigkeit des Namens *Spironema* besprechen, um womöglich jegliche Unklarheit in der Benennung von Organismen aus der Welt zu schaffen, die von so eminenter Bedeutung und Gegenstand einer so umfangreichen Literatur sind, wie der Syphiliserreger und seine Verwandten.

Vuillemin (1905) hatte ihre große Verschiedenheit von *Spirochaeta plicatilis* ganz richtig erkannt und deshalb das neue Genus aufgestellt. Aber gleich darauf wandten Stiles und Pfender ein, daß der Name *Spironema* bereits seit langer Zeit von Meek (1864) für eine fossile Schnecke vergeben sei, und schlugen deshalb den neuen Namen *Microspironema* vor.

Wenn ich in meiner früheren Arbeit (1910) diesen mir schon damals bekannten Einwand von Stiles und Pfender außer Betracht gelassen habe, so hat das einen sehr einfachen Grund. In der genannten Arbeit vertrete ich die Ansicht und suche sie durch neue Argumente zu stützen, daß sowohl Cristispiren als auch Spironemen nicht zu den Protozoen, sondern zu den Bakterien, also ins Pflanzenreich gehören. Damit war aber der von Stiles und Pfender gegen die Verwendbarkeit des Namens *Spironema* erhobene Einspruch für mich hinfällig.

Denn die Nomenklaturregeln erstrecken sich doch immer nur auf eines der großen Organismenreiche. Das Vorkommen desselben Genusnamens einmal im zoologischen, das andere Mal im botanischen System ist also kein Verstoß gegen die unumgänglich notwendigen, wenn auch oft rigoros erscheinenden Gesetze.

Daß es immer so gehalten wurde, daß mögen Fernerstehenden, namentlich Medizinern, zwei ausgezeichnet hierher passende Präzedenzfälle illustrieren.

Die jedem Arzt so vertrauten Namen *Bacillus* und *Coccus* waren schon lange, der eine für eine Stabheuschrecken-, der andere für eine Schildlausgattung im Gebrauch, als sie für die bekannten Bakteriengenera eingeführt wurden.[1]

Die Verwendung des Namens *Spironema* für eine fossile Schnecke konnte für mich also kein Hindernis bilden, ihn gleichzeitig für eine Bakteriengruppe zu verwenden. Und daß die von Vuillemin und mir als Spironemen bezeichneten Organismen wenigstens nicht zu den Protozoen, also nicht ins Tierreich gehören, wie Schaudinn und seine Anhänger annahmen, das kann nach den Untersuchungen der letzten Jahre doch wohl als sicher gelten.

Schwerwiegender ist der von Dobell (1911) gemachte Einwand, der sich auf die Vergebung des Namens *Spironema* an ein Flagellatengenus stützt.

Denn Bakterien und Flagellaten haben immerhin so nahe Beziehungen zueinander, daß es vielleicht mißlich erscheinen dürfte, wenn derselbe Genusname in beiden Gruppen angewandt wird. Mir war bei der Abfassung meiner früheren Arbeit die von Dobell zitierte Arbeit von Klebs (1892) nicht bekannt, und ich bin dem bekannten englischen Protozoologen für den Hinweis auf sie zu Dank verpflichtet. Seinen Einwand glaube ich aber widerlegen zu können.

---

[1] Der Kuriosität halber möchte ich hier noch erwähnen, daß auch der Name *Spirochaeta*, was bisher allen entgangen zu sein scheint, in der Zoologie bereits seit einem halben Jahrhundert vergeben war, als Schaudinn die „Pallida“ entdeckte. Nach Marschall, Nomenclator Zoologicus (Wien 1873) p. 441 hat Michael Sars im Jahre 1856 ein Annelidengenus *Spirochaeta* geschaffen. Natürlich war der berühmte norwegische Naturforscher dazu vollkommen berechtigt. Denn, wie ich oben gezeigt habe, war die Existenz der Ehrenberg'schen Bakterien- oder Cyanophyceengattung *Spirochaeta* kein Hindernis für die Benennung eines Wurmes mit demselben Namen. Sobald aber Schaudinn die „Spirochäten“ in den Stamm der Protozoen einreihen, aus dem botanischen also in das zoologische System versetzen wollte, hätte er, falls ihm die Arbeit von Sars bekannt gewesen wäre, einen neuen Namen für seine „Spirochäten“ einführen müssen. Daraus folgt natürlich, daß auch für diejenigen Zoologen, die an der Einheit des Genus *Spirochaeta* im Schaudinn'schen Sinne und zugleich an seiner Zugehörigkeit zu den Protozoen festhalten, der Name *Spirochaeta* präokkupiert ist. Da dasselbe aber auch von *Spironema* gilt, müßten die genannten Forscher, soweit sie die Herrschaft der Nomenklaturregeln anerkennen, sich in Zukunft des Namens *Microspironema* Stiles und Pfender bedienen.

Die große Klasse der Flagellata oder Mastigophora ist nicht nur sehr artenreich und vielgestaltig, sondern ihre Angehörigen zerfallen auch physiologisch und biologisch in 2 scharf geschiedene Gruppen, von denen die eine sich durch Besitz einer Cellulosenmembran und von Chromatophoren, sowie durch die Ernährungsweise als echte Pflanzen erweist, während die andere durchaus tierischer Natur ist. Es gibt unter ihnen, mit anderen Worten, sowohl Protophyten als auch Protozoen. Wir finden die Klasse der Flagellata daher sowohl im botanischen als auch im zoologischen System aufgeführt.

Wir müssen daher untersuchen, in welche der beiden genannten Gruppen Klebs' *Spironema multiciliatum* gehört.

Ihr Entdecker stellt sie in die Ordnung der Polymastigina, die alle durch den Besitz von mehreren, wenigstens 3 Geißeln ausgezeichnet sind. Von allgemeiner bekannten Formen gehören hierher z. B. die Genera *Hexamitus*, *Tetramtius*, *Trichomonas*, *Trichomastix*. *Costia*, *Lamblia* u. a. Alle haben ausgesprochen tierischen Charakter. Dasselbe gilt entschieden auch von *Spironema multiciliatum*. Sie besitzt weder eine Cellulosemembran, noch Chromatophoren und ernährt sich nach Art echter Protozoen von Bakterien und ähnlichen Körpern. Wichtig sind noch folgende Angaben von Klebs (1892). *Spironema multiciliatum* unterscheidet sich von allen übrigen Flagellaten durch die große Zahl kleiner an je einem Rande von 2 Spiralfurchen stehender Geißeln. Am nächsten steht ihr *Trichonema gracile*, für die Möbius (1888) die Gruppe der Cilioflagellata aufstellt, um anzudeuten, daß diese vielgeißeligen Flagellaten in verwandtschaftlichen Beziehungen zu den Wimperinfusorien stehen. Auch Klebs hält es für wahrscheinlich, daß sein *Spironema* und ähnliche Formen einen Übergang zu den Ciliaten bilden und meint, es wäre von großem Interesse zu wissen, ob *Spironema multiciliatum* sich durch Längs- oder Querteilung vermehrt. Wäre letzteres der Fall, so dürfte es wohl geboten erscheinen, es nicht unter die Flagellaten, sondern unter die Ciliaten einzureihen.

Für die uns hier interessierende Frage sind diese Erwägungen deshalb von Wert, weil sie uns zeigen, daß Klebs' *Spironema* ein echtes Protozoon ist. Denn die Ciliaten sind so exquisit tierische Organismen, daß eine ihnen nahe stehende Form unmöglich ins Pflanzenreich gehören kann.

Da nun die von Vuillemin und mir als *Spironema* bezeichneten Formen nach meiner Auffassung zu den Bakterien gehören, und, wie ich in einer jüngst erschienenen Arbeit (1911) andeute, wahrschein-

lich auch Beziehungen zu den Cyanophyceen, also ebenfalls zweifellosen Pflanzen zeigen, so kommt die Vergebung desselben Namens durch Klebs für ein ausgesprochen tierisches Flagellat für mich nicht in Betracht. Im botanischen System, das für mich in diesem Falle allein maßgebend ist, war der Name *Spironema* noch nicht okkupiert, als Vuillemin ihn für einen Teil der Vertreter des alten Genus *Spirochaeta* in Vorschlag brachte. Und hätte ich bei Abfassung meiner eingangs erwähnten Arbeit (Gross 1910) jene von Klebs bereits gekannt, so hätte ich trotzdem nicht anders handeln können, als ich es getan habe. Denn, indem ich mit Vuillemin (1905) die „Pallida“ und ihre Verwandten zu einer eigenen Gattung erhob, mußte ich auch den von meinem Vorgänger vorgeschlagenen Genusnamen akzeptieren, der, wie gesagt, für mich nicht als präokkupiert gelten konnte. Hätte ich, um Verwechslungen mit dem Klebs'schen Genus zu vermeiden, einen anderen Namen gewählt, so wäre dieser für jeden, der auf demselben Standpunkt steht wie ich, und Vuillemin's Spironemen für Bakterien hält, hinfällig, weil für die Gattung schon ein älterer Name, eben der von Vuillemin eingeführte, bestand. Es ist also nicht Eigensinn, wenn ich auch jetzt noch auf dem Namen *Spironema* bestehe, sondern ich gehorche einfach den Nomenklaturregeln.

Eine Möglichkeit gäbe es allerdings, meine Anwendung des Namens *Spironema* für ungültig zu erklären. Bekanntlich hat Haeckel vor langer Zeit den beachtenswerten Vorschlag gemacht, alle einzelligen Organismen aus dem Tier- und Pflanzenreich auszuscheiden und zu einem besonderen Protistenreich zu vereinigen. Erkennt man dieses dritte Reich der organischen Welt an, dann müssen ihm natürlich sowohl Bakterien als auch Flagellaten einverleibt werden, und dann war der Name *Spironema* tatsächlich schon durch Klebs okkupiert, als Vuillemin ihn für die „Pallida“ in Vorschlag brachte.

Haeckel's Gedanke hat nun aber weder bei Zoologen, noch bei Botanikern Anerkenung gefunden, und nach wie vor spricht man nur von Tier- und Pflanzenreich und verteilt auf sie Haeckel's Protisten. Und das hat seinen guten Grund. Haeckel war bei seinem Vorschlag von der unbestrittenen Tatsache ausgegangen, daß im Bereiche der Einzelligen der Entscheid, ob Tier oder Pflanze, oft nur schwer zu fällen ist. Namentlich unter den Flagellaten gibt es eine Reihe von zweifelhaften Formen, die mit mehr oder weniger Recht als Übergänge zwischen Tier- und Pflanzenreich betrachtet zu werden pflegen.

Andererseits aber würde die Annahme von Haeckel's Vorschlag

ebenfalls unliebsame Konsequenzen, namentlich auf botanischem Gebiet nach sich ziehen. Unter den Cyanophyceen und in anderen Algengruppen müßten nahverwandte Formen, je nachdem, ob sie ein- oder vielzellig sind, in zwei verschiedenen Reichen untergebracht werden. Und dazu hat man sich nicht entschließen können, und deshalb ist Haeckel's sonst, wie gesagt, durchaus diskutabler Vorschlag allgemein abgelehnt worden.

Erkennt man aber nur zwei Organismenreiche an, so ist nichts dagegen einzuwenden, daß ein Bakterien- und ein sicher zu den Protozoen gehöriges Flagellatengenus denselben Namen tragen.

Nun läßt aber Dobell (1911) meine Auffassung der Cristispiren und Spironemen als Bakterien nicht gelten; und ich will gerne zugeben, daß die systematische Stellung der Spironemaceen noch nicht endgültig feststeht, habe ich doch selbst in meiner letzten Arbeit (1911) in den Saprospiren Organismen beschrieben, die für verwandtschaftliche Beziehungen der Spironemaceen zu den Cyanophyceen zu sprechen scheinen. So oberflächlich, wie Dobell behauptet, ist aber die Ähnlichkeit zwischen *Cristispira* und *Spironema* einer- und zweifellosen Bakterien andererseits doch nicht.

Aber selbst, wenn man sich auf Dobell's Standpunkt stellt, muß der Name *Spironema* für die in Rede stehenden Organismen doch beibehalten werden. Denn Dobell erklärt wiederholt und ausdrücklich, daß die 3 Genera *Spirochaeta*, *Cristispira* und *Treponema* (= *Spironema* Vuillemin) nicht zu den Protozoen gehören und auch keine verwandtschaftlichen Beziehungen zu diesen haben. Damit scheiden sie aber aus dem Tierreich überhaupt aus, und ihre Nomenklatur ist unabhängig von der zoologischen.

In Parenthese bemerke ich, daß Dobell's Vorschlag, an Stelle von *Spironema* den Schaudinn'schen Namen *Treponema* zu setzen, in jedem Falle hinfällig ist. Denn läßt man den von Vuillemin eingeführten Namen nicht gelten, so ist der von Stiles und Pfender (1905) vorgeschlagene *Microspironema* prioritätsberechtigt, da die Arbeit der beiden amerikanischen Autoren früher erschien als die von Schaudinn (1905).

Kann es also als erwiesen gelten, daß der Name *Spironema* auch trotz des von Dobell erhobenen Einwandes zu Recht besteht, so könnte vielleicht der Versuch gemacht werden, das Genus *Treponema* wenigstens für den Erreger der Syphilis und den der Frambösie aufrecht zu erhalten. In der Tat gibt es nicht wenige, namentlich medizinische Autoren, die im Anschluß an Schaudinn (1905) die Namen *Treponema pallidum* und *Treponema pertenue* (oder irrtümlicherweise

pertenuis) gebrauchen, während sie die anderen Spironemen in die Genera *Spirochaeta* resp. *Spirillum* stellen. Es läßt sich aber zeigen, daß auch dieser Usus nicht statthaft ist.

Die von SCHAUDINN (1905 und 1907) aufgestellten Merkmale seines Genus *Treponema* kommen auch der großen Mehrzahl der anderen Spironemen zu. Wo sie bis jetzt noch nicht nachgewiesen sind, dürfte das wohl nur daran liegen, daß die betreffenden Species noch nicht genügend genau bekannt sind. Einige Merkmale aber, die sich vielleicht wirklich nur bei *Spironema pallidum* und allenfalls noch bei *Spironema pertenue* finden, sind so geringfügig, daß sie zur Aufstellung eines besonderen Genus nicht genügen. *Spironema pallidum* zeichnet sich, wie es scheint, dadurch aus, daß sie oft an beiden Polen Endfäden besitzt, während solche bei den meisten anderen Species immer nur an einem Pol vorkommen. Doch sind zwei End- oder Polfäden auch bei *Spironema refringens* nachgewiesen worden. Und nach NOVY und KNAPP ist bei *Spironema duttoni* und *novyi*, nach SCHELLACK (1907) auch bei *Spironema recurrentis* das dem Polfaden gegenüberliegende Ende häufig zu einer feinen Spitze ausgezogen, die allerdings kürzer und blasser ist als jener. Nun wissen wir durch HOFFMANN und PROWAZEK, daß die Polfäden bei der Teilung durch Zerreißen der lang ausgezogenen „Zwischenfäden“ entstehen. Und SCHELLACK macht darauf aufmerksam, daß bei *Spironema pallidum* in vielen Fällen schnell aufeinander folgende Teilungen konstatiert worden sind, die zur Bildung von Ketten führen, welche aus drei, ja sogar vier Tochterindividuen bestehen. Beim Zerfall einer solchen Kette müssen die mittleren Teilstücke natürlich zwei Polfäden erhalten. Offenbar unterbleibt ferner bei *Spironema pallidum* die von SCHELLACK für die Recurrensspironemen konstatierte Rückbildnng der Polfäden. Es findet sich also der zweite Polfaden auch bei anderen Spironemen wenigstens angedeutet, und sein konstantes Vorkommen und seine stärkere Entwicklung bei *Spironema pallidum* beruht wesentlich darauf, daß bei dieser Species die Tochterindividuen nach der Teilung länger vereinigt bleiben, als das bei den anderen Species der Fall ist. Eine leichte Verschiedenheit im Tempo der Teilung kann aber für die Abgrenzung eines Genus unmöglich in Betracht kommen.

In seiner posthumen Arbeit betont SCHAUDINN (1907) ferner noch einmal, daß die „Spirale“ nur bei *Spironema pallidum* „präformiert“ und daher „nicht nur im Zustande der Bewegung, sondern auch beim Stillstehen“ zu erkennen sei, während die übrigen Spironemen sie nur „während der lebhaftesten Bewegung zeigen können, in der

Ruhe aber in die flach gewundenen, mehr der geraden Linie sich nähernde Gestalt zurückkehren". In einer Anmerkung bemerken die Herausgeber der Arbeit, daß die „Spirale" auch bei *Spironema dentium* präformiert ist.

Hierauf muß ich zunächst erwidern, daß von einer Spirale überhaupt nicht die Rede sein kann, da die Spironemen, wie Schellack (1907) zuerst nachgewiesen hat, und ich dann (Gross 1910) bestätigt habe, keineswegs spiralig gedreht, sondern nur wellenförmig gebogen sind.

Wichtiger für unsere Frage ist, daß die Wellenform wohl bei allen Arten auch im Ruhezustande, und zwar gerade dann am schönsten, erkennbar ist. *Spironema gallinarum* wenigstens und die drei Arten von Recurrensspironemen, die ich eingehend daraufhin untersuchen konnte, zeigen, solange sie still liegen, verhältnismäßig steile und enge Windungen. Und im genauen Gegensatz zu Schaudinn's Behauptung verflacht sich die Wellenlinie gerade, wenn das Tier in Bewegung ist. Namentlich *Spironema duttoni* kann dann eine einfach peitschenförmig gebogene Linie bilden. Einige Angaben Schellack's stimmen durchaus zu meinen Beobachtungen. Für *Spironema duttoni* gibt er an: die „Seitenbewegungen überwiegen oft so, das die feinen Windungen ganz ausgezogen werden". *Spironema novyi* ist nach Schellack durch „eine gewisse Starrheit der Form" ausgezeichnet. Aber auch bei ihr wird die Weite der Wellen bei Verlangsamung der Bewegung geringer. Bei *Spironema recurrentis* endlich können während starker Bewegung die Windungen „völlig unregelmäßig" werden, ähnlich wie bei *Spironema duttoni.*

Auch nach Schellack also, der die Bewegungen der Spironemen sehr ausführlich beschreibt, ist die Wellenform während der Bewegung viel undeutlicher als in der Ruhe.

Auch tote Spironemen zeigen nach meiner Erfahrung, wenn das Absterben allmählich vor sich gegangen, der Tod also wohl sicher im Ruhezustande erfolgt ist, immer deutlich die für jede Species charakteristische Zahl und Form der Wellen. Auf Ausstrichpräparaten, wie sie für die älteren Spironemenarbeiten ja ausschließlich verwendet wurden, findet man allerdings oft jene fast geradlinigen Formen, wie sie so oft abgebildet worden sind. Das ist aber eine einfache Folge der rohen Konservierungsmethode. Beim Ausstreichen werden die Spironemen in mannigfaltigster Weise gezerrt und gequetscht, können daher unmöglich ihre natürliche Form beibehalten. Auch die Unterschiede in der „Starrheit" des Körpers und in der Steilheit der Wellen sind also keineswegs prinzipiell und reichen

höchstens hin, um die einzelnen Species einigermaßen sicher voneinander zu unterscheiden.

Auch SCHAUDINN's Feststellung, daß das *Spironema pallidum* einen kreisrunden Querschnitt aufweise, dürfte es nicht in einen wesentlichen Gegensatz zu den anderen Species bringen. Wie ich an Schnittpräparaten, die doch für diese Frage die allein maßgebenden sind, konstatieren konnte, ist auch *Spironema gallinarum* durchaus drehrund. Und SCHELLACK, der sich offenbar sehr vorsichtig ausdrückt, erklärt, daß für die Recurrensspironemen ein runder, höchstens ein schwach ovaler Querschnitt angenommen werden kann. Und wenn erst das Suchen nach Analogien mit den Trypanosomen aufgegeben worden ist, wird sich gewiß bald zeigen, daß auch die anderen Species, die SCHELLACK und mir nicht zur Untersuchung vorgelegen haben, keine „bandförmige Gestalt" haben, wie jetzt noch so oft behauptet wird, sondern ebenfalls drehrund oder doch annähernd drehrund sind. Also auch hier wieder lediglich geringfügige Modifikationen, die es unmöglich erscheinen lassen, das Genus *Spironema* in zwei zu zerlegen.

Wenn SCHAUDINN schließlich den wahrscheinlichen Mangel einer „undulierenden Membran" als unterscheidendes Merkmal des Luesspironema anführt, so fällt dieses Argument in sich zusammen, da ich in meiner früheren Arbeit (GROSS 1910) gezeigt habe, daß ein solches Organell keiner einzigen Spironeme zukommt.

Es liegt also nicht die geringste Veranlassung vor, für *Spironema pallidum* und *pertenue* ein besonderes Genus zu bilden. Der Name *Trepanoma* hat also endgültig aus der Nomenklatur auszuscheiden.

Die Einreihung der Spironemen in das Genus *Spirillum*, die bekanntlich auf LEBERT (1874) zurückgeht, war seinerzeit berechtigt, entspricht aber nicht mehr dem heutigen Stande der Forschung. Und die Autoren, die an ihr bis jetzt festgehalten haben, taten das in erster Linie wohl nur, um die Zugehörigkeit der Spironemen zu den Bakterien zu betonen. Die Unterschiede zwischen Spirillen und Spironemen sind aber, wie die intensive Forschung der letzten Jahre gezeigt hat, so groß, daß ihre Belassung in demselben Genus unmöglich erscheint. Die am meisten charakteristischen Merkmale der Spironemen, die eigentümliche Form der Querteilung mit Ausbildung von End- oder Polfäden und die ihnen mit Cristispiren und Saprospiren gemeinsame Kammerung des Körpers fehlen den Spirillen durchaus. Es war daher nicht nur die Ausscheidung der Spironemen aus dem Genus *Spirillum* notwendig; sondern auch die von mir vor-

genommene Vereinigung der drei Genera *Cristispira*, *Spironema* und *Saprospira* zu einer besonderen Familie der Spironemacea dürfte nicht der Berechtigung entbehren. Ja, wenn meine Annahme, daß die Kammerung der Spironemaceen als Vielzelligkeit aufzufassen ist, zutrifft, so entfernt die neue Familie sich beträchtlich weit von allen übrigen Bakterien, unter denen, soviel mir bekannt ist, vielzellige Formen bis jetzt nicht beschrieben worden sind. Es dürfte sich dann wohl die Notwendigkeit herausstellen, die neue Familie zum Range mindestens einer Ordnung, wenn nicht einer Subklasse zu erheben.

Neapel, Zoologische Station, Juli 1911.

Literaturverzeichnis.

Dobell, C. C. (1911): On Cristispira veneris nov. spec. and the Affinities and Classification of Spirochaets. in: Q. Journ. Micr. Sc. Vol. 56.

Ehrenberg, Ch. (1838): Die Infusionstierchen als vollkommene Organismen. Leipzig.

Gross, J. (1910): Cristispira nov. gen., ein Beitrag zur Spirochätenfrage. in: Mitteil. Zool. Stat. Neapel. 20. Bd.

— (1911): Über freilebende Spironemaceen. Ibid.

Klebs, G. (1892): Flaggellatenstudien. in: Zeitschr. Wiss. Zool. 55. Bd.

Lebert (1876): Rückfalltyphus, Flecktyphus und Cholera. in: Ziemssen's Handbuch der speziellen Pathologie und Therapie.

Meek (1864): Smithsonian Institution Check List.

Möbius, K. (1888): Bruchstücke einer Infusorienfauna von Kiel. in: Arch. Naturgesch. 44. Bd.

Schaudinn, F. (1905): Zur Kenntnis der Spirochaete pallida. in: Deutsch. med. Wochenschr. Jahrg. 1905.

— (1907): Zur Kenntnis der Spirochaeta pallida und anderer Spirochäten. (Aus dem Nachlaß Schaudinn's herausgegeben von Dr. M. Hartmann und Dr. S. v. Prowazek.) in: Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt 26. Bd.

Schellack, C. (1907): Morphologische Beiträge zur Kenntnis der europäischen, amerikanischen und afrikanischen Recurrensspirochäten. Ibid. 27. Bd.

Stiles u. Pfender (1905): The generic name (Microspironema) of the parasite of syphilis. in: Amer. Med. Vol. 10.

Vuillemin, P. (1905): Sur la dénomination de l'agent de la syphilis. in: C. R. Acad. Sc. Paris. Tome 140.

Zuelzer, M. (1910): Über Spirochaeta plicatilis und Spirulina. in: Zool. Anz. 35. Bd.

Notizen über die blutparasitischen Protozoen bei japanischen Vögeln.

Von

Dr. **Masanaga Ogawa** (Fukuoka, Japan).

(Hierzu Tafel 9.)

Wie allbekannt, zeigen die Protozoen, die im Vogelblut parasitieren, vor allem *Proteosoma* und *Haemoproteus*, mit dem menschlichen Malariaparasiten, nicht nur morphologisch, sondern auch biologisch große Ähnlichkeiten.

Diese Parasiten wurden in vielen Ländern bei verschiedenen Vögeln nachgewiesen und von mehreren Forschern untersucht. Bei uns in Japan aber wurde bisher keine diesbezügliche Mitteilung veröffentlicht. In der Stadt Fukuoka, welche an der nördlichen Küste der Insel Kiushiu in Südjapan liegt, habe ich mich daher einige Jahre lang damit beschäftigt, auch bei unseren Vögeln diese interessanten Blutparasiten zu finden und ihre morphologischen, sowie biologischen Eigenschaften zu studieren. Ich möchte hier die Ergebnisse meiner eigenen Beobachtungen kurz zusammenstellen.

Es waren insgesamt 1478 Exemplare von Vögeln, die ich zur Untersuchung bekommen habe. Alle Exemplare stammten aus der Umgebung der Stadt Fukuoka, sie wurden zumeist geschossen, ausgenommen die wenigen lebendig gefangenen Exemplare. Sie gehörten zu 23 Familien und 54 Arten. Wir haben uns bemüht, möglichst verschiedene Vogelarten zu sammeln, nämlich Passeres, Raptatores, Columbinen, Scansores, Grallatores, Gallinacei, auch Natatores, an Zahl überwog jedoch weitaus die erstere Gruppe.



Das Blutausstrichpräparat wurde beim lebendigen Vogel von der Flügelvene, beim erschossenen vom Herzen hergestellt und mit GIEMSA-Lösung gefärbt. Ich habe auch in manchen Fällen Ausstrich- sowohl als auch Schnittpräparate von den inneren Organen gemacht und mit derselben Färbung untersucht.

Von den Vögeln waren 150 Exemplare, also 10,1 Proz. mit Blutparasiten infiziert und zwar 76 = 5,1 Proz. mit *Haemoproteus*, 15 = 1,01 Proz. mit *Proteosoma*, 64 = 4,3 Proz. mit *Leukocytozoon* und 10 = 0,6 Proz. mit *Trypanosoma*. Nicht selten zeigte sich eine Mischinfektion von zwei oder drei Parasitenarten.

Außerdem wurden bei verschiedenen Vogelarten sehr oft Blutfilarien gefunden.

Die genauen Befunde stellte ich in nebenstehender Tabelle zusammen.

Die Blutfilarien wurden bei folgenden 17 Vogelarten gefunden, nämlich bei:

1. *Scops semitorques* (TEMM. u. SCHL.); 2. *Anthus spinoletta japonicus* (T. u. S.); 3. *Hypsipetes amaurotis* (TEMM.); 4. *Turdus fuscatus* PALL.; 5. *Turdus pallidus* GMEL.; 6. *Turdus obscurus* GMEL.; 7. *Geocichla varia* (PALL.); 8. *Corvus macrorhynchus japonensis* BP.; 9. *Corvus pastinator* GOULD.; 10. *Garrulus japonicus* T. u. S.; 11. *Zosterops japonica* T. u. S.; 12. *Fringilla kawarahiba minor* T. u. S.; 13. *Coccothraustes vulgaris japonicus* T. u. S.; 14. *Emberiza spodocephala* PALL.; 15. *Emberiza variabilis* TEMM.; 16. *Emberiza rustica* PALL.; 17. *Emberiza elegans* TEMM.

I. Haemoproteus.

Wie oben erwähnt, habe ich 76 Fälle von *Haemoproteus* bei 17 Vogelarten nachgewiesen. Ich konnte dabei drei verschiedene Haemoproteusformen beobachten, die ich hier genauer schildern will. Aber selbstverständlich ist, daß man morphologisch ähnliche Formen nicht ohne weiteres in eine und dieselbe Art zusammenfassen darf. Es ist sehr gut denkbar, daß trotz vieler morphologischer Ähnlichkeiten die verschiedenen *Haemoproteus* eine ganz verschiedene Entwicklung durchmachen.

1. Die gewöhnlichen Halteridien wurden, wie aus folgender Tabelle zu ersehen ist, bei vielen Vogelarten beobachtet, ausgenommen bei *Fringilla kawarahiba minor* TEMMINCK u. SCHLEGEL.

Die großen, bohnenförmigen Parasiten lagen an der Längsseite des Erythrocytenkernes, man traf dabei oft eine so große Form, daß der Erythrocyt fast ganz von dieser erfüllt war.

Wie bekannt, ließen sich durch die Beschaffenheit des Protoplasmas und Chromatins zwei Geschlechtsformen unterscheiden, Macrogamet und Microgametocyt. Außerdem wurden öfters extra-

	Die infizierten Vogelarten	Gesamtzahl der untersuchten Exemplare	Gesamtzahl der infizierten Exemplare
I. *Haemoproteus*:	1. *Ardetta sinensis* (GMELIN)	4	3
	2. *Scolopax rusticola* LINNEUS.	24	2
	3. *Scops semitorques* (TEMMINCK u. SCHLEGEL).	6	5
	4. *Lynx torguilla* LINN.	2	2
	5. *Anthus spinoletta japonicus* (T. u. S.)	33	4
	6. *Hypsipetes amaurotis* (TEMMINCK)	137	18
	7. *Turdus fuscatus* PALLAS.	277	6
	8. *Turdus pallidus* GMEL. } 9. *Turdus obscurus* GMEL. }	98	9
	10. *Geocichla varia* (PALL.)	15	1
	11. *Lanius bucephalus* T. u. S.	100	15
	12. *Corvus macrorhynchus japonensis* BONAPARTE	13	1
	13. *Garrulus japonicus* T. u. S.	12	4
	14. *Zosterops japonica* T. u. S.	24	1
	15. *Fringilla kawarahiba minor* T. u. S.	133	2
	16. *Coccothraustes vulgaris japonicus* T. u. S.	6	2
	17. *Emberiza elegans* TEMM.	20	1
II. *Proteosoma*:	1. *Turtur orientalis* (LATHAM)	111	14
	2. *Emberiza variabilis* TEMM.	12	1
III. *Leukocytozoon*:	1. *Falco peregrinus* TUNSTALL	1	1
	2. *Scolopax rusticola* LINN.	24	3
	3. *Turtur orientalis* (LATHAM)	111	5
	4. *Scops semitorques* T. u. S.	6	4
	5. *Hypsipetes amaurotis* (TEMM.)	137	16
	6. *Turdus fuscatus* PALL.	277	8
	7. *Turdus pallidus* GMEL. } 8. *Turdus obscurus* GMEL. }	98	11
	9. *Geocichla varia* (PALL.)	15	2
	10. *Ruticilla aurorea* (GMEL.)	16	1
	11. *Corvus macrorhynchus japonensis* BP.	13	2
	12. *Garrulus japonicus* T. u. S.	12	5
	13. *Zosterops japonica* T. u. S.	24	2
	14. *Fringilla kawarahiba minor* T. u. S.	133	1
	15. *Coccothraustes vulgaris japonicus* T. u. S.	6	2
	16. *Emberiza variabilis* TEMM.	12	1
IV. *Trypanosoma*:	1. *Scops semitorques* T. u. S.	6	1
	2. *Ampelis japonicus* SEEBOHM	21	2
	3. *Lanius bucephalus* T. u. S.	100	2
	4. *Garrulus japonicus* T. u. S.	12	4
	5. *Coccothraustes vulg. jap.* T. u. S.	6	1

globuläre Individuen gefunden, welche abgerundet frei im Blutplasma lagen, sie maßen im Durchmesser 6—8 μ. Ich konnte nicht selten auch die in Erythrocyten liegenden, kleineren Individuen beobachten,

die auf die jüngeren heranwachsenden Formen zurückzuführen waren. Sie zeigten einen rundlichen oder länglich ovalen Körper von 1—3 μ im Durchmesser.

2. Ein eigenartiges Halteridium fand sich bei zwei Exemplaren von *Fringilla kawarahiba minor* TEMMINCK u. SCHLEGEL. Das Chromatin von diesem zeigte etwas anderes Verhalten, als das von gewöhnlichen Halteridien. Es besaß nämlich außer dem Hauptchromatinklumpen noch ein deutlich hervortretendes, kleines Chromatinkörnchen, das bei anderen Halteridien vollständig fehlte. Das Körnchen befand sich bald mitten, bald mehr peripherisch im bohnenförmigen Parasitenkörper, bald dicht neben dem Hauptchromatinklumpen, bald etwas entfernt von diesem. Es war stets regelmäßig kreisrund, färbte sich leuchtend rubinrot. Eine ovale oder Stäbchenform, wie sie beim Blepharoplasten von verschiedenen Trypanosomen gewöhnlich vorkommt, konnte ich bei diesem Chromatinkörnchen nie finden. Auch war die Struktur weniger dicht, als dies bei Blepharoplasten von Flagellaten der Fall zu sein pflegt. Sein Durchmesser betrug ca. 1 μ (Fig. 1 u. 2).

3. Ein eigenartiges, haemoproteusähnliches Gebilde, welches im Herzblut durch Teilung sich vermehrte, wurde sehr oft bei *Hypsipetes amaurotis* (TEMMINCK) nachgewiesen (Fig. 3–7).

Die Entwicklung der rundlichen oder ovalen Parasitenformen fand sowohl an den Polen als auch an der Längsseite der roten Blutkörperchen statt. Ihre Größe erreichte höchstens 3 μ im Durchmesser. Dabei zeigte das Chromatin immer eine Anordnung, welche auf Teilungsvorgänge schließen läßt (Fig. 4). Die geteilten Chromatinklumpen ordneten sich in manchen Fällen an der Peripherie des rundlichen Körpers an, so daß das Bild stark an *Dactylosoma splendens* des Frosches erinnerte (Fig. 5 u. 6). Im Protoplasma waren geringe gelblich braune Pigmentkörnchen zu sehen. Die neugebildeten Merozoiten betrugen 4—6, zuweilen 8 an der Zahl (Fig. 7). Der Protoplasmakörper der jüngsten Individuen von 1—1,5 μ in der Größe färbte sich leicht blau, darin lag ein verhältnismäßig großes, rundes, rubinrot gefärbtes Chromatinkorn (Fig. 3).

Die Kernverschiebung der Wirtszellen kam jedenfalls nicht zustande, die bei *Proteosoma* immer zu bemerken ist.

Mit dem Herzblut eines damit stark infizierten Vogels unternahm ich einen Übertragungsversuch. Je 0,3 ccm von dem mit einer kleinen Menge physiologischer Kochsalzlösung gemischten Blut wurden in den Brustmuskel von zwei Sperlingen eingespritzt. Das Resultat war jedoch negativ.

Bemerkenswert ist nur das, daß dieser Parasit in den meisten Fällen mit großen Halteridien zugleich vorkam (Fig. 8 u. 9). Ob es sich nur um eine ganz zufällige Mischinfektion handelt, oder ob irgendwelche Beziehungen zwischen den beiden Parasitenformen vorhanden seien und welches der ganze Entwicklungscyclus ist — alles dies sind Fragen, welche zu entscheiden, weiteren Beobachtungen anheimgestellt bleiben. Wir hoffen in kürzester Zeit zu genaueren Untersuchungen dieser interessanten Parasitenform Gelegenheit haben zu können.

II. Proteosoma.

Proteosoma wurde nur bei zwei Vogelarten nachgewiesen, d. h. *Turtur orientalis* (LATHAM) und *Emberiza variabilis* TEMMINCK. Merkwürdig ist auch, daß 116 Exemplare von Tauben (111 *Turtur orientalis* (LATHAM), 5 *Treron sieboldi* (TEMMINCK)) gar keine Hämoproteusinfektion zeigten, während dieselbe Vogelart oft mit *Proteosoma* infiziert war.

Ich konnte in gefärbten Blutpräparaten die ganze ungeschlechtliche Entwicklung dieses Parasiten vollständig beobachten. Die Anzahl von Merozoiten betrug im allgemeinen 6—18, sie erreichte sogar in einem Falle über 30. Zuweilen waren im Blut nur die völlig reifen, kreisrunden Gameten vorhanden. Diese maßen im Durchmesser 5—6 μ.

III. Leucocytozoon.

Die gefundenen Formen von *Leucocytozoon* bei unseren Vögeln waren im wesentlichen folgende:

1. Heranwachsende Formen. Die Parasitenformen befanden sich im Protoplasma großer lymphocytenähnlicher Zellen. Die jüngsten, runden Individuen hatten den Durchmesser von ca. 3 μ (Fig. 10). Ein rosarot gefärbtes, großes Chromatinkorn lag im blauen Protoplasmakörper. Die befallenen Wirtszellen zeigten noch keine besonderen Veränderungen. Die weiter herangewachsenen Individuen erreichten 5—7 μ in der Größe (Fig. 11 u. 12). Dabei trat eine eigentümliche Deformation der Wirtszellen ein. Der Zellkern zeigte immer eine mehr oder weniger tiefe Einbuchtung, so daß es den Anschein hatte, als ob er durch den Parasiten eingedrängt würde. Auch das Zellplasma färbte sich nicht mehr so deutlich wie früher.

2. Ausgewachsene Formen. Die ausgewachsenen Individuen kamen in zweierlei Gestalten vor, nämlich in runden und spindel-



förmigen Formen. Erstere waren bei unseren Vögeln die gewöhnlicheren, letztere wurden nur bei *Scops semitorques* Temminck u. Schlegel gefunden. Bei runden Formen war das Protoplasma der Wirtszellen in den meisten Fällen nicht mehr erkennbar und der stark deformierte, langgestreckte Zellkern umgab den runden Parasitenkörper (Fig. 13—16). Diese Körper maßen 9—13 μ im Durchmesser. Bei spindelförmigen Formen lag in der Mitte ein scharf konturierter ovaler Körper von 12—15 μ im Längsdurchmesser und 9—12 μ im Querdurchmesser (Fig. 17 u. 18). Dicht entlang seiner Längsseite befand sich der hantelförmig gestreckte Zellkern. Das spindelförmige Gebilde bildete eine zarte, helle membranartige Hülle, die sich bald blaßblau, bald schwach rötlich färbte. Es machte sehr den Eindruck, als ob es höchst wahrscheinlich der veränderte Protoplasmarest der Wirtszelle wäre. Die Länge der spindelförmigen Gebilde schwankte zwischen 30—60 μ.

In Anbetracht der Struktur, der Färbbarkeit ihres Protoplasmas und der Beschaffenheit des Chromatins, waren die ausgewachsenen Parasitenformen in zweierlei Individuen unterscheidbar, die sich mit den beiden Gametenformen von *Haemoproteus* sehr gut vergleichen lassen. Das eine besaß ein dichteres, dunkelblau gefärbtes Protoplasma (Fig. 13—15 u. 17), während beim anderen dasselbe heller und blaßrötlich gefärbt erschien (Fig. 16 u. 18). Das dunkelblau gefärbte Protoplasma zeigte bald große Vacuolen (Fig. 14 u. 15), bald zahlreiche kleine, rundliche, ungefärbte helle Stellen (Fig. 13, 14, 17). Dasselbe enthielt zuweilen auch im ganzen Körper zerstreute, feine Körnchen, die sich tiefschwarz färbten (Fig. 14).

Die Individuen mit dem dunkelblau gefärbten Protoplasma besaßen rosarot gefärbte, kompakte Chromatinmassen. In den meisten Fällen war daneben noch ein kreisrundes Chromatinkörnchen deutlich erkennbar. Sein Durchmesser betrug ca. 1 μ. Es färbte sich dunkelrot.

Die Individuen mit dem blaßrötlich gefärbten Protoplasma enthielten vielfach reichlichen Gehalt von Chromatin, das eine bedeutend aufgelockerte Beschaffenheit hatte. Dabei fehlte das kreisrunde Chromatinkörnchen vollständig. Manchmal stellte sich sogar das Chromatin in Form von im ganzen Körper verteilten Partikelchen dar, wie es auch bei der Geißelung der Microgametocyten von *Haemoproteus* öfters der Fall ist.

IV. Trypanosoma.

Im Herzblut waren die Trypanosomen immer so spärlich vorhanden, daß ich in manchen Fällen erst bei genauerer Durchmuste-

rung von zwei oder drei Ausstrichpräparaten einige Exemplare davon finden konnte. Auch in den inneren Organen (Milz, Leber und Lunge) wies ich Trypanosomen nach. Vor allem im Knochenmark kamen sie vielfach in größerer Anzahl vor als im Herzblut.

Was die Morphologie anbelangt, war der abgeplattete, breite, spindelförmige Körper gewöhnlich nach einer Seite ausgebogen, zuweilen zeigte er eine spiralförmige Drehung. Das Vorderende verjüngte sich allmählich, das Hinterende war schnabelförmig zugespitzt. Der Randfaden der wohlausgebildeten, lamellenartigen undulierenden Membran ging am Vorderende in eine mehr oder weniger lange, freie Geißel über. Im dunkelblau gefärbten Protoplasmakörper war eine deutliche, helle Längsstreifung erkennbar. Zuweilen enthielt der ganze Protoplasmakörper eine Menge von feinsten Körnchen, welche sich tiefschwarz färbten. Größere und kleinere Vacuolen waren vorhanden. Ein rundlicher Kern von 3—4,5 μ im Durchmesser lag im breitesten Teile des Körpers, etwas mehr hinten als in der Mitte. In gewisser Entfernung hinter dem Kern befand sich ein kleiner, ovaler Blepharoplast. Rings um diesen war ein schmaler, heller Hof wahrzunehmen. Die Dimension der Parasiten war sehr variabel. Sie maßen in der Länge 18—40,5 μ, in der Breite 3—7,5 μ.

Herrn Professor Dr. Doflein bin ich für die Anregung zu dieser Mitteilung zu großem Danke verpflichtet.

München, Juli 1911.

Tafelerklärung.

Tafel 9.

Trockenpräparat. Fixierung mit Alkohol absolutus.

Färbung nach Giemsa, Leitz, Apochrom. 2 mm, Kompens.-Ocular 8.

Fig. 1 und 2. Halteridien bei *Fringilla kawarahiba minor* T. u. S.

Fig. 3—7. Hämoproteusähnliche Gebilde in den roten Blutkörperchen von *Hypsipetes amaurotis* (Temm.).

Fig. 3. Jüngste Formen. Dreifache Infektion.

Fig. 4. Weiter entwickelte Formen mit geteiltem Chromatin. Dreifache Infektion.

Fig. 5 und 6. Dito. Chromatinmassen ordnen sich an der Peripherie des Parasitenkörpers an.

Fig. 7. Merozoitenbildung.

Fig. 8 und 9. Halteridien bei *Hypsipetes amaurotis* (Temm.)

Fig. 10—12. Heranwachsende Formen von *Leukocytozoon.*

Fig. 10 und 12. *Leukocytozoon* bei *Scops semitorques* T. u. S.

Fig. 11. *Leukocytozoon* bei *Garrulus japonicus* T. u. S.

Fig. 13—16. Ausgewachsene *Leukocytozoon.* Runde Formen bei *Hypsipetes amaurotis* (Temm.)

Fig. 17 und 18. Dito. Spindelförmige Formen bei *Scops semitorques* T. u. S.

(Aus dem Zoologischen Institut der Universität Heidelberg.)

Über zwei neue marine Ciliaten.

Von
Ludwig Anigstein.

(Hierzu Tafel 10.)

I. Blepharisma clarissima.

A. Material.

Bei der Untersuchung der mikroskopischen Fauna der Seeaquarien des zoologischen Instituts wurde meine Aufmerksamkeit auf ein Infusor gelenkt, welches ich genauerem Studium unterzog. Obwohl alle Aquarien des hiesigen zoologischen Instituts mit Seewasser aus Triest gefüllt sind, konnte ich nur in einem dieses Infusor in einer beschränkten Anzahl finden. Das Bassin, welches mir Material für die folgende Arbeit lieferte, ist reichlich mit Algen bewachsen, welche am Sandboden eine dicke Detritusschicht bilden. In dieser Masse abgestorbener Algenreste fand sich das Infusor in Gesellschaft anderer Infusorien, z. B. *Trachelocerca phoenicopterus*, *Holosticha rubra*, *Stichochaeta sp.*, *Condylostoma patens*, *Strombidien* und einiger anderer.

Aus dem Aquarium in kleine Kulturschalen übertragen, ließ es sich nicht gut züchten, indem es schon nach wenigen Tagen an Zahl stark abnahm und nach einer Woche vollständig verschwand, während andere der oben erwähnten Ciliaten sich wohl befanden.



B. Morphologie.

Die Körperform (Fig. 1) ist langgestreckt (ungefähr 10mal so lang als breit) und seitlich stark komprimiert. Die Länge der Tiere schwankt von 160 μ bis 380 μ. Das Peristom reicht vom Vorderende bis fast zur Mitte der ventralen Kante, wo an seinem Ende die Mundöffnung liegt. Die vom Peristom eingenommene Vorderhälfte nimmt nach vorn etwas an Breite ab und biegt an der Spitze schnabelartig ventral um. Dieser Peristomteil des Körpers ist etwas stärker komprimiert, als der übrige Körper (Fig. 5), und längs der ventralen Kante, welche das Peristom trägt, zugeschärft, während die dorsale und ventrale Kante der hinteren Körperhälfte abgerundet sind. Unmittelbar hinter der Mundöffnung ist der Körper etwas breiter, aber bald darauf beginnt er sich allmählich zu verschmälern, um am Hinterende abgerundet oder abgestutzt zu endigen. In den meisten Fällen ist die Rückenkante in Seitenansicht schwach konkav, während die ventrale konvex ist, wodurch der ganze Körper schwach gebogen erscheint. — Das Tier ist farblos; junge Exemplare sind durchsichtiger als ältere. Im allgemeinen sehr durchsichtig.

Bewimperung. Längere Zeit hielt ich das Infusor wegen seiner gleichmäßigen und totalen Bewimperung für ein holotriches, was deshalb leicht möglich ist, weil die Membranellen des Peristoms am lebenden Tier schwer zu erkennen sind und sich auf den ersten Blick nur durch ihre Dicke und die Art der Bewegung von den Körpercilien unterscheiden. Letztere stehen in gleichmäßigen Längsreihen und bewegen sich so rasch, daß sie am lebenden Tier nur schwer sichtbar sind; nur am Hinterende, wo sie zu einem Büschel vereinigt und etwas länger als die übrigen sind, sowie fast stets ruhen, kann man sie leicht erkennen. Sonst sind die Wimpern überall von gleicher Länge und an ihrem Ende nicht zugespitzt, sondern in ihrer ganzen Länge von gleichem Durchmesser. An etwas gepreßten Exemplaren kann man die Lage und Verteilung der Cilien sehr gut beobachten. Noch deutlicher treten sie jedoch hervor an Tieren, welche im hängenden Tropfen mit Osmiumsäuredämpfen fixiert und dann mit der von Schewiakoff (1889, p. 6) angegebenen 5proz. Sodalösung $^1/_2$ Stunde behandelt wurden. An mit Eisenhämatoxylin gefärbten Präparaten läßt sich feststellen, daß die Basis jeder Cilie knötchenartig verdickt ist (Basalkern) und die Papillen der reihenweise angeordneten Cilien untereinander vermittels einer feinen Linie verbunden scheinen (Fig. 2).

Da die Körperstreifung sämtlicher Ciliaten (wo solche vorhanden ist) in engster Beziehung zu der Cilienanordnung steht, so will ich diese beiden Erscheinungen im Zusammenhange besprechen.

Indem die Cilienreihen durch cilienfreie Bänder getrennt sind, kommt nur eine Längsstreifung des Infusorienkörpers zustande, aber kein anderes Streifungssystem, wie es bei vielen Holotrichen der Fall ist. Die Längsstreifung, welche wir bei unserem Infusor finden, hat Bütschli in seinem Protozoenwerk (1889, p. 1284) als eine besondere Kategorie betrachtet, im Gegensatze zu den komplizierten Streifungssystemen der Holotricha. Die Cilienreihen stehen in mäßig tiefen Furchen, zwischen denen sich konvex gewölbte cilienfreie Bänder finden, die wir nach Bütschli als Rippenstreifen bezeichnen wollen. Letztere erscheinen bei hoher Einstellung als dunkle Streifen, welche das Tier in der Längsrichtung von vorn nach hinten durchziehen; die zwischen ihnen gelegenen Furchen erscheinen bei ebenfalls hoher Einstellung hell. Die Oberfläche der Rippenstreifen ist mit zwei Reihen kleiner, rundlicher, grünlich glänzender Körnchen besetzt und außerdem fein granuliert, was ihr ein dunkles Aussehen verleiht (Fig. 2).

Wie wir später sehen werden, befindet sich die Mundöffnung unseres Infusors nicht direkt auf der Ventralkante, sondern ist etwas auf die rechte Körperseite verschoben. Infolgedessen hat die Körperstreifung eine wesentliche Modifikation erfahren, welche jedenfalls im Zusammenhange mit der allmählichen Verlagerung des Mundes zustande kam und zwar in der Weise wie es Bütschli (1889) erklärt. Bütschli nimmt an, daß die ursprünglich vorn gelegene und runde Mundöffnung sich zu einer spaltförmigen umgebildet habe, worauf eine Reduktion des vorderen Teiles des Spaltes folgte. Jede folgende Stufe der Mundverschiebung war von entsprechenden Umbildungen des Streifungssystems begleitet. Während nämlich die meridional verlaufenden Streifen bei einer monaxonen holotrichen Form von ihrer terminal gelegenen Mundöffnung ausstrahlten, um sich am Hinterende wieder zu vereinigen, erfahren sie bei einem spaltartig in der Richtung der Längsachse ausgezogenen Munde eine Durchbrechung und stoßen im ganzen Umkreis an den Mundspalt an. Wenn aber das vordere Ende des Mundspaltes zusammenwächst und auf diese Weise reduziert wird, dann stoßen die gegenüberliegenden Streifen aufeinander und vereinigen sich durch Verwachsung. Letztere kann nicht stattfinden, wenn zwischen der ventral gelegenen Mundöffnung und der vorderen Körperspitze ein Peristom eingeschoben wird. In diesem Falle entspringen die Körperstreifen von den beiden Rändern

des Peristoms, biegen sich um den Mund und verlaufen dann weiter nach dem Hinterende zu. Solche Verhältnisse finden wir bei *Dileptus*, wo die Streifen symmetrisch von beiden Rändern des Peristoms ihren Ursprung nehmen. Die Modifikation der Körperstreifung ist aber bei unserer Form noch weiter gegangen dadurch, daß der Streifenverlauf auf der rechten Rüsselseite sich anders darstellt als auf der linken. Die Streifen der linken Seite (Fig. 1) nehmen ihren Ursprung vom Peristomrand und zwar sind sie zu ihm schief gestellt, während die des rechten (Fig. 3—4) fast bis zum Vorderende parallel zueinander und zum Peristomrand verlaufen, dann aber alle der Biegung des „Schnabels" folgen, um in seiner Spitze unter sehr spitzen Winkeln zusammenzustoßen. Diese Verschiedenheit in der Streifung beider Körperseiten läßt sich am natürlichsten von den Streifungsverhältnissen bei *Dileptus* ableiten. Auf der hinteren Körperhälfte ist der Verlauf der Streifen auf beiden Seiten identisch. Die Rippenstreifen verschmälern sich allmählich in der Richtung zum Hinterende, verschmelzen aber nicht untereinander, sondern bleiben wie am ganzen Körper durch die bewimperte Furche getrennt. Direkt am Hinterende biegen die Rippenstreifen um und gehen in diejenigen der entgegengesetzten Seite über. Durch die Mundöffnung wird die Streifung der ventralen Kante unterbrochen (Fig. 5).

Infolge der äußerst geringen Kontraktilität behält die Körperstreifung stets ihre Längsrichtung.

Peristom und Schlund. Wie schon erwähnt, liegt das Peristom auf der Ventralkante des Tieres; es nimmt seinen Ursprung direkt unter der Schnabelspitze und erstreckt sich in den meisten Fällen bis zur Mitte des Körpers. Sehr selten kamen Exemplare vor, bei denen das Peristom genau bis zur Körpermitte reichte, aber diese Grenze überschreitet es nie. Bei den größten Individuen, deren Größe ca. 380 μ betrug, war das Peristom und somit das Vorderende (Rüssel) ca. 160 μ lang. Die gesamte Körperlänge verhält sich also zum Rüssel wie 5 : 2. — Wenn das Tier mit der Ventralkante nach oben gekehrt ist, dann läßt sich das Peristom recht gut studieren. Es stellt eine sehr flache und schmale Rinne dar, an deren linkem Rand eine dichte Reihe von Membranellen steht. Diese Membranellen sind, wie oben schon bemerkt wurde, am lebenden Tiere sehr schwer als solche zu erkennen und konnten nur nach Anwendung der besprochenen Sodalösung nachgewiesen werden. Nach einer längeren Einwirkung dieser werden die Membranellen in die sie zusammensetzenden Wimpern zerfasert und erscheinen dann von der

Fläche aus gesehen viereckig. Sie entspringen von stäbchenartigen Basallamellen, welche quer zum Peristomrande (Fig. 5) liegen, und erscheinen deshalb bei seitlicher Ansicht des Tieres als kleine papillenartige Erhebungen der Pellicula (Fig. 1). An die Mitte der ventralen Kante angelangt, erweitert sich die Peristomrinne zur Mundöffnung, welche von links her mit einer Art Lippe überdeckt wird, die vom linken Peristomrand entspringt. In der Gegend der Lippe verliert die Membranellenreihe ihren geradelinigen Verlauf, indem sie sich in den Schlund einsenkt und dabei fast einen ganzen Kreisumgang beschreibt. Die Basallamellen der Schlundmembranellen werden immer kürzer, letztere also schmäler, bis sie im Schlunde verschwinden (Fig. 1 u. 5).

Die Membranellen des Peristoms befinden sich stets in wellenförmiger Bewegung; sie schlagen heftig von vorn nach hinten und dienen in dieser Weise nicht nur zur Herbeistrudelung der Nahrung, sondern auch zur Fortbewegung. Die Membranellen des Schlundes bewegen sich viel heftiger als die übrigen.

Wie bei den Heterotrichen sehr häufig, verläuft auch hier eine undulierende Membran am hinteren rechten Peristomrand und zwar nimmt sie ihren Ursprung ungefähr in der Mitte der dorsalen Wand des Schlundes und endigt bald nach dem Austritt aus der Mundöffnung. Am lebenden Tier kann man deutlich die wellenförmigen Bewegungen der Membran verfolgen. Sie erscheint wie eine frei abstehende, sehr schmale Haut (Fig. 5).

Kerne. a) Der Macronucleus ist rosenkranzförmig, etwas an die dorsale Kante des Infusors gerückt und aus Gliedern bestehend, die nicht in einer geraden Linie, sondern mehr oder weniger zickzackförmig angeordnet sind. Ihre Zahl variiert mit der Größe des Tieres. Bei den größten Individuen (Länge 380 μ) betrug sie 47; am häufigsten kamen ca. 32 vor. Die Glieder sind schon am lebenden Tier sichtbar (besonders bei schwacher Vergrößerung und bei leichter Kompression der Tiere); sie erscheinen bei hoher Einstellung als helle rundliche Bläschen (Fig. 1.)

Um die Verbindungen zwischen den einzelnen Gliedern nachzuweisen, habe ich versucht, den Kern mit Methylgrün-Essigsäure (1 Proz.) zu färben. Dabei kommt es vor, daß die Tiere zerfließen, und es gelingt eventuell den Kern zu isolieren; jedoch führte mich diese Methode zu keinem positiven Resultat. An Exemplaren, die nach Fixierung mit Osmiumsäuredämpfen mit Alaunkarmin gefärbt wurden, waren die Verbindungen wegen der Undurchsichtigkeit des Plasmas nicht sichtbar. Erst nach Fixierung in schwacher Flemming-

scher Lösung, welche alle Plasmaeinschlüsse löst und das Plasma vollständig durchsichtig macht, wurden die Verbindungen zwischen den einzelnen Kerngliedern (nicht an allen) sichtbar (Fig. 7). Mit Safranin färben sich die Verbindungen nicht; sie erscheinen aber an solchen Präparaten als sehr dünne, doppelt konturierte Fädchen, die in ihrer Mitte vollständig frei von färbbarer Kernsubstanz sind und wohl nichts anderes als Verlängerungen der Kernmembran darstellen. An Stellen, wo sie ein Kernglied verlassen, dringt der gefärbte Kerninhalt ein wenig in sie herein; an diesen Stellen sind sie daher am deutlichsten zu erkennen.

Die Struktur des Kernes ließ sich am besten an Tieren untersuchen, welche mit einer Lösung von Methylgrün in 1 proz. Essigsäure behandelt worden waren. Unter Einwirkung der Essigsäure hebt sich die Kernmembran von der Kernsubstanz ab und zwischen beiden bildet sich ringsum eine schmale helle Zone. Die Kernsubstanz selbst erscheint fein granuliert, was durch feine unregelmäßig verteilte und ungleich große Chromatinkörnchen hervorgerufen wird (Fig. 6).

Nicht an allen Kerngliedern tritt bei dieser Behandlung ein heller Querspalt auf, der, von der Seite gesehen, die Form einer bikonvexen Linse besitzt, und von zwei dunklen Lamellen begrenzt erscheint. Die Ränder des Kernspaltes berühren die Kernmembran, was auch sonst eine häufige Erscheinung ist, namentlich bei den Hypotrichen (Fig. 6).

b) Micronuclei. Während der Macronucleus auch am lebenden Tier wahrzunehmen ist, lassen sich die Micronuclei nur an gefärbten Präparaten erkennen. Sie erscheinen stets als kleine Kügelchen, während die Kernglieder mehr oder weniger ausgezogen sind (Fig. 7). Auch die Zahl der Micronuclei ist nicht konstant, aber im allgemeinen nimmt sie mit der Zahl der Kernglieder zu. So habe ich an einem Individuum 44 Glieder des Macronucleus und 10 Micronuclei gezählt; bei anderen:

32 Ma-N und 3 Mi-N
33 „ „ 5 „
40 „ „ 13 „

Die Lage der Micronuclei ist nicht konstant: am häufigsten liegen sie dicht neben den Macronucleusgliedern oder zwischen ihnen (neben den Verbindungsfäden), jedoch sind immer einige von ihnen verhältnismäßig weit vom Ma-N entfernt, ja sogar beinahe an die Körperwand gerückt (Fig. 7).



Die Beobachtung der Micronuclei wird dadurch erleichtert, daß das Infusor ziemlich leicht zum Zerfließen zu bringen ist, wobei sich der Kern samt den Micronuclei isoliert. Der ganze Kernapparat behält aber seine Form nur kurze Zeit, da die Macronucleusglieder im Wasser aufquellen und ihre Membran sich auflöst.

Vacuolen. Im Hinterende befindet sich eine ovale bis längliche, ziemlich große Vacuole, die der dorsalen Kante des Tieres genähert ist und nach vorn in einen dünnen zuführenden Kanal ausläuft. Dieser kann die eigentliche Vacuole an Länge bis zu 10 mal übertreffen und reicht ungefähr bis zur Körpermitte. Hin und wieder erweitert er sich zu länglichen schmalen Vacuolen, welche in ziemlich gleichen Abständen voneinander entfernt sind und höchst wahrscheinlich Bildungsvacuolen darstellen. Die terminale Vacuole ist kontraktil, sie kontrahiert sich jedoch in langen Zwischenräumen. Der Excretionsporus liegt direkt am Hinterende des Tieres, wo er eine kleine Einsenkung der Oberfläche bildet (Fig. 1).

Außer der kontraktilen Vacuole sind noch Nahrungsvacuolen verschiedener Größe vorhanden, die in der Umgebung des Schlundes unregelmäßig zerstreut liegen.

Das Ectoplasma ist vom Entoplasma nicht scharf abgegrenzt und unterscheidet sich am lebenden Tier kaum von ihm. An Präparaten, die mit Alaunkarmin gefärbt sind, kann man jedoch sehr deutlich die Pellicula und einen Alveolarsaum erkennen. Erstere erscheint als ein dünner dunkler Saum, unter dem der Alveolarsaum liegt. Im optischen Längsschnitt (am Rande des Tieres) gesehen, erscheinen die Waben des letzteren ziemlich schmal, senkrecht zur Pellicula gestreckt. Der Alveolarsaum ist vom Entoplasma durch eine dünne dunkle Schicht abgegrenzt, in welcher die Wabenwandungen Verdickungen aufweisen, die in Präparaten als schwarze Punkte erscheinen. Bei Einstellung des Mikroskops auf die Oberfläche des Tieres läßt sich der Alveolarsaum von der Fläche gut studieren. Man erkennt, daß die Alveolarschicht in jedem Rippenstreifen aus drei Längswabenreihen besteht, die von den Waben des benachbarten Streifens durch eine feine dunkle Linie abgegrenzt sind. Ihre Form ist (von der Fläche aus) etwas länglich, unregelmäßig polygonal, vielleicht hexagonal. An den Ecken der Waben sind Verdickungen als kleine dunkle Punkte vorhanden (Fig. 9).

Entoplasma. Es enthält zahlreiche Einschlüsse, von denen spindelförmige, stark lichtbrechende Körperchen hervorzuheben sind, welche besonders nach Behandlung des Tieres mit Sodalösung (nach vorheriger Fixierung mit Osmiumdämpfen) deutlich werden (Fig. 10).

Über die Natur und Bedeutung dieser Gebilde bin ich nicht klar genug, wahrscheinlich haben wir es mit Excretkörpern zu tun. Sehr ähnliche Gebilde hat Stein bei *Nyctotherus ovalis* (1867, Taf. 15 Fig. 11, f.) gefunden und sie als Fettkörper beschrieben. Auf diese Angabe kann man sich jedoch nicht verlassen, da Stein viele andere heterogene Plasmaeinschlüsse auch als Fett bezeichnet hat, ohne sie chemisch geprüft zu haben. Jedenfalls handelt es sich in unserem Falle nicht um Fett, da diese Gebilde durch Osmiumsäure nicht geschwärzt werden und sich im absoluten Alkohol nicht auflösen. Dagegen lösen sie sich in konzentrierter HCl, aber erst nach einer Stunde, wenn sie noch im Innern des Infusors sind, und schon nach wenigen Minuten, wenn sie durch Zerfließenlassen des Tieres isoliert werden. In konzentrierter KOH lösen sie sich so rasch, daß man den Vorgang kaum verfolgen kann. Farbstoffe wie: Alaun- und Boraxkarmin, Hämatoxylin und Eisenhämatoxylin werden von den Excretkörnchen nicht aufgenommen, jedoch verleiht ihnen Methylgrün einen schwachen Ton.

Bewegnng. Das Infusor hält sich ausschließlich auf dem Boden auf, wo es sich stets auf der rechten Körperseite langsam, aber fortwährend gleitend fortbewegt. Selten schwimmt es durch das Wasser, indem es schlängelnde Bewegungen oder Achsendrehungen ausführt. Durch die außerordentliche Biegsamkeit des Körpers vermag es durch schmale Lücken (zwischen Sandpartikelchen, Algen usw.) sich durchzudrängen, wobei es rückwärts schwimmt und den Körper krümmt, wenn es nicht gelingt durchzudringen. Von einer Kontraktilität des Körpers kann kaum die Rede sein.

Die Nahrungsaufnahme konnte an keinem Tiere beobachtet werden, was zur Vermutung berechtigt, daß die Nahrung äußerst fein ist. Von gröberer Nahrung im Entoplasma konnte ich nichts bemerken, auch gelang die künstliche Fütterung mit Karminkörnchen nicht. Jedoch kann man hauptsächlich im Hinterende fast jedes Individuums sowohl zerstreut, als auch in Anhäufungen winzige stäbchenförmige Gebilde beobachten, die sich mit Safranin färben. Es handelt sich höchst wahrscheinlich um aufgenommene Bakterien (Fig. 11).

C. Systematische Stellung.

Der anatomische Bau unseres Infusors beweist, daß es zu den Heterotrichen gehört, denn es besitzt eine gleichmäßige feine Bewimperung der Körperoberfläche sowie eine adorale Zone, die aus

Membranellen besteht und mit einer rechtsgewundenen Spirale im Schlund endigt.

Auf Grund der stark komprimierten Körperform und „der Beschaffenheit des Peristoms, welches stets eine schmale Rinne darstellt, die gewöhnlich dicht am Vorderende beginnt und gerade über die Bauchkante bis zum Mund nach hinten zieht“ (Bütschli, 1889 p. 1719) findet unsere Form mit Sicherheit ihre Stellung in der Familie der Plagiotomina. Dazu kommen noch folgende wesentliche Charaktere der Plagiotomina hinzu, welche unserem Infusor eigen sind: „die adorale Zone erstreckt sich vom Mund am linken Rand der Peristomrinne bis zum vorderen Körperende und hat demnach einen geraden Verlauf; am hinteren Teil des rechten Peristomrandes meist eine undulierende Membran“ (Bütschli l. c). Es handelt sich ohne Zweifel um eine *Blepharisma*-Art und zwar eine bis jetzt noch nicht beschriebene Species. Die Angehörigkeit zur Gattung *Blepharisma* ergibt sich aus der Form des seitlich stark komprimierten Körpers, welcher vorn in einen Schnabel ausläuft und hinten stumpf endigt. Die von Stein beschriebenen Arten *lateritia* und *undulans* sind ebenfalls durch ein schnabelförmiges Vorderende ausgezeichnet, aber bei ihnen ist es nicht so stark ausgeprägt wie bei der vorliegenden Form. Ein weiterer Unterschied besteht darin, daß unsere Art bedeutend schlanker ist als die bisher bekannten, ihren Körper kann man sogar bandförmig benennen.

Aus der Beschreibung des Peristoms wissen wir, daß es direkt auf der ventralen Kante des Tieres liegt und nur die Mundöffnung etwas auf die rechte Körperseite verschoben ist. Letztere Erscheinung steht im Zusammenhange mit der Gewohnheit des Tieres, sich stets auf dieser Seite am Boden gleitend fortzubewegen und ist höchst wahrscheinlich als eine Anpassung zur Erleichterung der Nahrungsaufnahme zu betrachten. In diesem Sinne können wir die bekannten *Blepharisma*-Arten: *lateritia* und *undulans*, bei denen außer der Mundöffnung auch das Peristom auf die rechte Seite verlagert wurde, von unserer Art ableiten (Stein, 1867, Taf. II Fig. 1—4).

Wie oben schon erwähnt wurde, verlaufen die adoralen Membranellen direkt auf dem linken Peristomrande und behalten diese Lage bis zur Lippe bei, unter welcher sie sich fortsetzen, wobei sie sich vom Peristomrand entfernen, um in den Schlund einzudringen. In dieser Beziehung verhält sich das Peristom der *Blepharisma lateritia* und *undulans* anders, indem „die vordersten adoralen Wimpern fast bis zur Mitte (des Peristoms) ganz frei unmittelbar auf dem Außenrande des Peristoms stehen, dann aber stetig weiter nach ein-

wärts rücken und einer Linie folgen, die sich immer mehr von der äußeren Randlinie entfernt." (STEIN, 1867; p. 181; Taf. II Fig. 1—4).

Die Länge des Peristoms — wie STEIN mit Recht sagt — kann für die Gattung *Blepharisma* nicht absolut bestimmt werden, da dasselbe bei *Blepharisma undulans* auf das vordere Körperdrittel beschränkt ist, während es bei *Blepharisma lateritia* über die Körpermitte hinausreicht. Bei *Blepharisma n. sp.* reicht es nicht einmal bis zur Körpermitte. In dieser Hinsicht würde unsere Art eine Mittelstellung zwischen *lateritia* und *undulans* einnehmen. Was die Bildung der undulierenden Membran angeht, nähert sie sich *lateritia*, bei welcher sie als ein sehr schmaler, frei abstehender Hautstreifen erscheint, während sie bei *Blepharisma undulans* eine gut entwickelte querfaltige Hautlamelle ist.

Im Bau des Schlundes bestehen auch nicht unwesentliche Unterschiede. Dieser ist bei *Blepharisma lateritia* und *undulans* „hackenförmig, nach einwärts gebogen, fast quer, röhrig trichterförmig" (STEIN), während er bei *Blepharisma n. sp.* kurz, sackförmig nach hinten und etwas dorsalwärts gerichtet ist. Auch die Spirale, welche im Schlunde verläuft, ist bei unserer Art stärker gebogen und deutlicher ausgebildet als bei den anderen.

Der Nucleus wurde von STEIN für *Blepharisma lateritia* als ein farbloser homogener ovaler Körper beschrieben und für *Blepharisma undulans* als aus zwei Gliedern bestehend, welche untereinander durch einen langen Verbindungsstrang zusammenhängen. Jedoch finden wir in der BÜTSCHLI'schen Diagnose die Angabe, daß der Kern bei *Blepharisma* rosenkranzförmig werden kann, wie es auch bei unserer Form der Fall ist. Dagegen wurde die Frage nach der Existenz der Micronuclei bei den bis jetzt bekannten Blepharismen noch nicht gelöst. BALBIANI soll einen solchen gesehen haben, die Untersuchungen von STEIN, ENGELMANN und BÜTSCHLI (1876) haben dies nicht bestätigt. Die Micronuclei unserer Art lassen sich sehr deutlich an gefärbten Präparaten erkennen, so daß über ihre Existenz bei dieser Art kein Zweifel sein kann.

Bei den bis jetzt beschriebenen Blepharismen ist die Vacuole zwar auch terminal gelegen wie bei *Blepharisma n. sp.*, aber meistens rund, selten unregelmäßig geformt (*Blepharisma undulans*, STEIN 1867, Taf. I Fig. 12) und stets ohne zuführenden Kanal. Dieser fehlt aber bei unserer Art nie und durch dieses Merkmal stellt die Vacuole die Gattung *Blepharisma*, welche ohnedies sehr nahe an *Spirostomum* steht, in noch nähere verwandtschaftliche Beziehungen zu diesem letzteren.

Die Gattung *Blepharisma* wurde zuerst von Perty (1852) im Süßwasser entdeckt und zwar in zwei Varietäten: einer farblosen, *Blepharisma hyalinum*, und einer rotgefärbten, *persiscinum*. Dann wurde *Blepharisma hyalinum* von Claparède und Lachmann untersucht und als *Plagiotoma lateritia* beschrieben. Sie unterscheidet sich aber erheblich von unserer Form. Farblose Exemplare im Süßwasser fand später Stein (1867), sagt aber nichts, ob sie sich im Bau von der rotgefärbten *Blepharisma lateritia* unterscheiden. Sonst sind nur zwei Fälle in der Literatur bekannt, wo farblose Blepharismen als marine Formen auftreten. Andrussowa (1886) hat solche in der Bucht von Kertsch gefunden und Duncker (1879) im „Meerwasser" (er gibt nicht an, woher das Wasser stammt). Im ersten Falle ist sie unter dem Namen *Plagiotoma lateritia* kurz beschrieben und abgebildet worden, aber ihre Körperform und innerer Bau sind total verschieden von unserer Art aus dem Adriatischen Meere.

II. *Coelosoma marina* nov. gen. nov. sp.

In einem Aquarium, dessen Wasser ebenfalls aus Triest stammt, habe ich eine Ciliate gefunden, mit der ich mich nur eine kurze Zeit beschäftigen konnte, da die Kultur, in der sie sich befand, durch Zufall zugrunde ging, weswegen meine kurze Mitteilung sich nur auf Betrachtung einiger Exemplare stützen wird.

Das Infusor ist recht groß, so daß größere Exemplare schon mit bloßem Auge deutlich wahrgenommen werden konnten. Seine Länge beträgt 0,2 mm. Die Körperform ist ellipsoidisch bis eiförmig. Bei kleinen Exemplaren ist das Hinterende etwas zugespitzt, während das Vorderende stets schwach abgeflacht erscheint. Größere Exemplare sind länglicher. Der Querschnitt des Körpers ist kreisrund.

Die Cilienreihen der Körperoberfläche stehen nahe nebeneinander; von der am Vorderende gelegenen Mundöffnung ausstrahlend, überziehen sie den ganzen Körper in der Längsrichtung und verleihen ihm ein gleichmäßiges Wimperkleid. Nur in der Gegend der Mundöffnung werden die sonst einfachen Verhältnisse etwas kompliziert, indem der Mund von Cilien umgeben wird, die in einigen konzentrischen Kreisen angeordnet sind (Fig. 12 u. 13). In der Mundgegend treten die Cilien deutlich hervor, während die Bewegung der Körpercilien nur schwach wahrnehmbar ist. Die cilienfreien Längsbänder zeigen eine zarte Querstreifung (Fig. 15).

Die unmittelbar am Vorderende gelegene Mundöffnung führt in einen verhältnismäßig langen ($^1/_8$ der Körperlänge) röhrenförmigen, dickwandigen Schlund, dessen Wand gegen das Lumen etwas konvex gebogen ist (Fig. 13). Am Hinterende schwillt er zu einem dicken Wulst an, der von einer engen Öffnung durchbrochen wird. Die innere Fläche des Schlundes ist dicht mit Cilien besetzt, die in parallelen Längsreihen angeordnet sind (Fig. 13).

Das Protoplasma zeigt sehr eigentümliche Verhältnisse. Schon bei schwacher Vergrößerung bemerkt man deutlich im Innern des Infusors einen sehr großen Hohlraum. Da in diesem Raum bei großen Exemplaren oft ziemlich lange gewundene Oscillarienfäden lagen, so könnte man der Meinung sein, daß er durch Auseinanderdrängung des Plasmas an die Oberfläche gebildet werde. Es stellte sich aber heraus, daß der Hohlraum oder die große Vacuole auch bei solchen Exemplaren vorhanden ist, wo keine Spur von aufgenommenen Algen oder anderer Nahrung zu finden war. Überhaupt habe ich kein einziges Individuum ohne den eigentümlichen Hohlraum gesehen. Der hintere Teil des Schlundes mit seiner wulstartig verdickten Wand senkt sich in den Hohlraum vor und öffnet sich in denselben.

Das Plasma ist stark vacuolisiert, und zwar sind die Vacuolen im ganzen ziemlich gleich groß, nur im Vorderteil des Körpers kleiner als um den Hohlraum herum (Fig. 13).

Der große, ovale Macronucleus, der am lebenden Tier als heller Körper erscheint, ist mittels Protoplasmasträngen im Hohlraum, dicht an seiner Wand befestigt. Diese Verhältnisse erinnern sehr an diejenigen bei *Trachelius ovum* (Hamburger 1903). An einem mit Alaunkarmin gefärbten Präparat erscheint der Kern fein granuliert. An ihm kann man zwei dunkle rundliche Körperchen erkennen, welche untereinander durch einen fein längsgestreiften Strang verbunden sind und vielleicht einen Micronucleus darstellen (Fig. 14).

Eine kontraktile, etwas vor dem Hinterende gelegene Vacuole findet sich stets im Wandprotoplasma.

Von kleineren Nahrungsvacuolen war nichts zu sehen. Das Ectoplasma zeigt eine deutliche Pellicula, sowie einen Alveolarsaum (Fig. 13 u. 14).

Das Infusor bewegt sich ziemlich schnell, wobei es sich um die Längsachse dreht. Körper nicht kontraktil.

Aus der gleichmäßigen Bewimperung des Körpers ersieht man sofort, daß es sich um ein typisch holotriches Infusor handelt, und zwar gehört es auf Grund der elliptischen Körperform und des

terminalen Mundes in die Gruppe der monaxonen Formen, welche durch die Familie der Enchelinen repräsentiert werden. Unter diesen gibt es nur zwei Gattungen: *Holophrya* und *Prorodon*, mit denen das Infusor eine Ähnlichkeit in der äußeren Gestalt besitzt. Jedoch ergibt ein näherer Vergleich der beiden Gattungen mit der vorliegenden, daß sie weder zur einen noch zur anderen Gattung gehören kann, weil ihr röhrenförmiger Schlund innen stark bewimpert ist, während *Holophrya* und *Prorodon* niemals im Innern des Schlundes Cilien besitzen, dagegen meist einen Stäbchenapparat. Da unter den monaxonen Holotrichen bis jetzt noch keine mit innen bewimpertem Schlunde beschrieben wurde, so bildet unser Infusor den Typus einer neuen Gattung, deren Diagnose folgendermaßen lauten würde:

Körper nicht kontraktil, ellipsoidisch bis eiförmig, Vorderende etwas abgestutzt, Querschnitt kreisrund. Mund terminal von konzentrischen Cilienkreisen umgeben. Schlund röhrenförmig, dickwandig, am inneren Ende wulstartig angeschwollen; innen mit in dichten Längsreihen angeordneten Cilien; mittels einer Öffnung führt er in einen großen Hohlraum (Vacuole). Das stark vacuolisierte Plasma bildet nur einen Wandbelag. Ein wurstförmiger Macronucleus an der Wand des Hohlraumes durch Plasmastränge befestigt. Kontraktile Vacuole in der hinteren Körperhälfte, aber nicht terminal. Vorwärtsbewegung rasch, bei gleichzeitiger Achsendrehung. Nahrung groß (Oscillarien).

Ich möchte noch darauf hinweisen, daß es immerhin möglich wäre, daß das vorliegende Infusor mit dem sog. *Prorodon marinus* Clap. u. Lachm. identisch ist, da die Ähnlichkeit der äußeren Form sehr groß erscheint. Es wäre nur höchst merkwürdig, wenn Claparède u. Lachmann (1858), Quennerstedt (1865) und Möbius (1888) ein so auffallendes Merkmal, wie die Bewimperung des Schlundes, welche schon bei Anwendung schwacher Vergrößerung deutlich wird, nicht bemerkt hätten. Möbius schreibt nur, daß der Schlund von „vorübergehenden Längswülsten“ durchzogen wird. Diese Wülste konnten eventuell den Längsreihen von Schlundcilien entsprechen und die während ihrer Bewegung „vorübergehend“ erscheinen. Würde unsere Vermutung richtig sein, so dürfte der angebliche *Prorodon marinus* nicht mehr in der Familie der Enchelinen seine Stellung finden, sondern zu einer neu aufzustellenden Gruppe gehören, deren Hauptcharakter: ein röhrenförmiger, dickwandiger, längsbewimperter Schlund ist.

Ich fühle es als angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer Herrn Geh.-Rat Prof. Bütschli, der mich auf manches während meiner Arbeit aufmerksam machte und in liebenswürdigster Weise unterstützte, an dieser Stelle meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Auch bin ich verpflichtet, den Assistenten: Frl. Dr. C. Hamburger, Herrn Dr. v. Buddenbrock und Herrn Dr. E. Widmann, die mir stets zu Hilfe waren, herzlichst zu danken.

Heidelberg, Juli 1911.

Literaturverzeichnis.

1886 Andrussowa, J.: Über die Infusorien der Bucht von Kertsch. Arb. d. St. Petersb. Gesellsch. d. Naturf. Bd. 17 1886 p. 236 (russisch).

1876 Bütschli, O.: Studien über die ersten Entwicklungsvorgänge der Eizelle, die Zellteilung und die Conjugation der Infusorien. Abhandl. d. Senckenb. naturf. Gesellsch. Frankfurt a. M. Bd. 10 1876 p. 213—452.

1889 —: Protozoa. III. Abt. Bronn's Kl. u. Ordn. d. Tierreichs. Leipzig 1889.

1858 Claparède u. Lachmann: Etudes sur les Infusoires et les Rhizopodes. Genève 1858—61.

1879 Duncker: Über Blepharisma lateritia. Zool. Anz. II. Jahrg. 1879 p. 260.

1862 Engelmann: Zur Naturgeschichte der Infusorien. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 11 1862 p. 347—393.

1903 Hamburger, C.: Beiträge zur Kenntnis von Trachelius ovum. Arch. f. Protistenk. Bd. 2 1903.

1888 Möbius, K.: Bruchstücke einer Infusorienfauna der Kieler Bucht. Arch. f. Naturgesch. 1888 Bd. 1.

1852 Perty, M.: Zur Kenntnis kleinster Lebensformen. Bern 1852.

1865 Quennerstedt, A.: Bidrag til Sveriges Infusoria Fauna. I. Acta Universitatis Lundunensis Bd. 2 1865.

1889 Schewiakoff, W.: Beiträge zur Kenntnis der holotrichen Ciliaten. Bibliotheca Zoologica Heft 5. Kassel 1889.

1894 —: Über die Natur der sog. Excretkörner der Infusorien. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 57 1894.

1867 Stein, F.: Der Organismus der Infusionstiere. Bd. 2. Leipzig 1867.

Tafelerklärung.

Allgemeine Bezeichnungen.

Alv.	= Alveolarsaum.	*Ma-N.*	= Macronucleus.
C.	= Cilien.	*Mi-N.*	= Micronucleus.
C.V.	= kontraktile Vacuole.	*un.M.*	= undulierende Membran.
F.	= Furche.	*P.*	= Pellicula.
N.V.	= Nahrungsvacuole.	*R.*	= Rippenstreifen.

Fig. 1. *Blepharisma clarissima* von der linken Seite. Habitusbild. Nach dem Leben gezeichnet bei ca. 600 × Vergr.

Fig. 2. Drei Rippenstreifen in Oberflächenansicht nach einem mit Sodalösung behandelten Präparat gezeichnet. Öl-Immers. 2 mm, Comp.-Oc. 12.

Fig. 3. Körperstreifung der linken Seite. Nach dem Leben gezeichnet. Etwas schematisiert.

Fig. 4. Körperstreifung der vorderen rechten Körperseite. Nach dem Leben.

Fig. 5. Adorale Zone, Schlund und undulierende Membran in ventraler Ansicht. Nach einem mit Osmiumdämpfen und Sodalösung behandelten Präparat.

Fig. 6. Isoliertes Kernglied nach Behandlung mit Methylgrün-Essigsäure, wobei sich die Kernmembran abgehoben hat und ein Kernspalt aufgetreten ist.

Fig. 7. Kernapparat nach einem mit Alaunkarmin gefärbten Präparat. (Die Verbindungen waren nicht zwischen allen Kerngliedern sichtbar.) Öl-Immersion, Comp.-Oc. 12.

Fig. 8. Alveolarsaum im optischen Längsschnitt. Bei Einstellung des Mikroskops auf den Rand des Infusors. Mit Alaunkarmin gefärbt. Öl-Immers., Comp.-Oc. 12.

Fig. 9. Zwei Rippenstreifen von der Fläche gesehen mit den Waben des Alveolarsaumes. Mit Alaunkarmin gefärbt. Öl-Immers., Comp.-Oc. 12.

Fig. 10. Excretkörner (?) nach Fixierung mit Osmiumdämpfen und Behandlung mit 5proz. Sodalösung. Durch Druck isoliert. Öl-Immers., Comp.-Oc. 12.

Fig. 11. Excretkörner (?) und Nahrungskörper (Bakterien) im Hinterende.

Fig. 12. *Coelosoma marina.* Habitusbild. Nach dem Leben gezeichnet bei ca. 250 × Vergr. Etwas schematisiert.

Fig. 13. Vorderende des Infusors. Schlund, vacuolisiertes Protoplasma. Nach einem schwach gepreßten Exemplar gezeichnet. Trockensystem 6, Leitz, Oc. 3.

Fig. 14. Macronucleus mit Protoplasmasträngen an der Wand des Hohlraumes befestigt. Alveolarsaum, Pellicula, Micronuclei (?). Öl-Immers., Comp.-Oc. 12.

Fig. 15. Querstreifung der cilienfreien Streifen. Trockensystem 6, Leitz, Oc. 4.

(Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.)

Caryosom und Centriol beim Teilungsvorgang von *Chilodon uncinatus.*

Von

Dr. **Kurt Nägler.**

(Hierzu Tafel 11.)

Nachdem neuerdings das Vorkommen von Caryosomen und Centriolen bei fast allen Protozoengruppen seine Bestätigung gefunden hatte (HARTMANN 1910, NÄGLER 1911), galt es noch die betreffenden Verhältnisse genauer bei den Infusorien zu erforschen. Auch bei diesen liegen bereits kurze Angaben vor, von PROWAZEK (1909 a u. b), bei *Leucophrys* und *Lionotus*, von HARTMANN (1910) bei einem kleinen Infusor aus dem Süßwasser, von CHAGAS [1]) (nach einer

[1]) Inzwischen ist die Arbeit von CHAGAS in den Mem. Osw. Cruz 1911 erschienen und ich möchte gleich an dieser Stelle auf ihre Resultate kurz eingehen. Der Macronucleus von *Balantidium littorinae* und *testudinis* enthält in seiner centralen voluminösen Masse das Chromatin in Form bald feinerer und gleichmäßiger Körnchen, bald großer Körner. Der zweite Zustand soll darauf hinweisen, daß sich das von einem Caryosom ausgeschiedene Chromatin noch in größeren Massen verteilt findet. Endlich findet man auch typische Caryosome in der Grundmasse umgeben von einem hellen Hof. Die Größenverhältnisse eines Caryosoms können sehr wechseln, entsprechend der Reihenfolge der cyklischen Veränderungszustände, vom Centriol-ähnlichen Gebilde an bis zu großen runden Körpern. Einzelne Teilungsstadien bildet Verf. ab, und zwar in Form von Centrodesmosen. Es können auch mehrere Macronucleen mit je einem Caryosom vorkommen, letztere Stadien wohl im Zusammenhang mit sexuellen Vorgängen. Der Micronucleus ist ein Caryosomkern mit Centriol, der gleichfalls cyklischen Veränderungen unterliegt. Der Bau des Macronucleus bei obigen Formen stimmt mil dem bei *Lionotus* und weiterhin bei *Glaucoma* überein, wie in einer späteren Arbeit gezeigt werden wird.



Notiz bei Hartmann 1910) bei einem *Balantidium* aus einer Schildkröte und einem neuen parasitischen Infusor aus einer Schnecke, ferner von Enriques (1908) bei *Chilodon.* Letzterer hat zwar die Caryosome und Centriole andeutungsweise bereits abgebildet, aber sie ihrer Natur nach nicht erkannt und dementsprechend nicht beschrieben.

In vorliegender Arbeit soll nun zunächst der Teilungsvorgang bei *Chilodon* beschrieben werden.

Während wir die sexuellen Vorgänge bei *Chilodon* aus der ausführlichen Arbeit von Enriques (1908) kennen, deren Resultate ich überall da bestätigen konnte, wo ich Gelegenheit hatte, auf meinen Präparaten die Conjugation betreffende Stadien zu sehen, ist die Zweiteilung bisher noch nicht ausführlich beschrieben worden. Da *Chilodon* einmal ein sehr leicht zu beschaffendes Material ist und die Individuen bei der Feuchtfixierung fast alle am Deckglas haften bleiben, so konnte ich im Verlauf des Färbe- und Differenzierungsprozesses gerade hinsichtlich der Struktur des Macronucleus, auf die es mir vor allem ankam, alle wichtigen Einzelheiten aufdecken.

Was nun den Macronucleus im Ruhezustande eines vegetativen Individuums anbelangt, so ließen die bisherigen Beobachtungen viel zu wünschen übrig. Gewöhnlich wurde er nämlich überfärbt mit Eisenhämatoxylin oder mit anderen Farbstoffen überhaupt schlecht gefärbt. Eine derartige Abbildung enthält z. B. Doflein's Lehrbuch der Protozoenkunde. Auch in Fig. 2 ist ein derartig überfärbtes Individuum abgebildet.

Das innen liegende Caryosom ist nur undeutlich zu erkennen. Die am Außenrande liegenden Nucleolen können des öftern einen fast gleichmäßig ausgebildeten peripheren Saum bilden. In Fig. 1 tritt das Caryosom deutlich hervor, mit einem Centriol versehen in Fig. 3. Der Außenrand des Caryosoms enthält chromatische Brocken, so daß keine Rede davon sein kann, daß das Centriol infolge konzentrischer Entfärbung als dunkler Punkt in der Mitte übrig bliebe. Es läßt sich vielmehr in allen weiteren Phasen der Kernteilung verfolgen. Bleiben wir zunächst beim Macronucleus, so zeigen uns die Fig. 6 u. 7 den Beginn der Kernteilung an. Die Außenkernsubstanz um das Caryosom herum nimmt allmählich fädige Struktur an, die in den weiteren Fig. 9 u. 10 besonders deutlich zu erkennen ist. In Fig. 10 sieht man noch einzelne größere keulenförmige Körper, die offenbar in den Prozeß der fädigen Anordnung mit hineingezogen werden. Das Caryosom ist in allen diesen Figuren deutlich durch einen hellen Hof von der Außensubstanz getrennt

und enthält in Fig. 7 ein Centriol, in Fig. 8 eine leicht gekrümmte Centrodesmose. Die Außensubstanz nimmt im weiteren Verlauf der Kernteilung eine feinkörnige Struktur an (Fig. 8 u. 11). (Man achte auf die gleichzeitig sehr deutlich ausgeprägte Micronucleusteilung!) Das Caryosom unterliegt in Fig. 11 einer einfachen Durchschnürung, einer Promitose (Nägler 1909), wobei die Centriole als endständige polare Körner sichtbar sind.

Nunmehr nimmt die Außensubstanz des Macronucleus eine bröckelig-netzförmige Struktur an (Fig. 12). Es treten kleine Vacuolen auf und bei der vollendeten Durchschnürung in Fig. 13 bereits wieder deutliche Brocken, zum Teil noch in Stäbchenform, zum Teil bereits wieder abgerundet. Ein Individuum nach der Teilung zeigt Fig. 14, das deutlich an dem oberen offenen Ende des Macronucleus das noch ausgezogene Caryosom zeigt, ferner am anderen Ende ein punktförmiges Korn. In der vorhergehenden Fig. 13 hängen die beiden Tochterindividuen noch durch einen Plasmastrang zusammen, in dem die letzten Spuren der Caryosomdurchschnürung noch sichtbar sind. Damit wäre die Macronucleusteilung beschrieben und es erübrigt sich nun noch auf die Teilung des Micronucleus einzugehen.

Der Micronucleus scheint in Fig. 4 ein blaß gefärbtes Centriol zu enthalten, in Fig. 5 u. 6 gut erkennbare Centrodesmosen. Während seine Teilung in den Fig. 7, 8, 9 u. 11 klar zu verfolgen ist und sich durch die dreieckige Zuspitzung der Tochterkerne charakterisiert, war es in den Fig. 10, 12 u. 13 nicht möglich, den Micronucleus zu erkennen. Dies beruht auf seiner geringen Färbbarkeit, die ihn nur bei sehr scharfer Durchmusterung der Präparate in seinen Teilungsstadien erkennen läßt. In der Fig. 14 weist er noch die dreieckig zugespitzte Gestalt auf und befindet sich schon wieder auf der Wanderung nach dem hinteren Ende des Individuums, wo seine gewöhnliche Lage ist. Wenn auch die Teilungsvorgänge des Macronucleus und Micronucleus im allgemeinen synchron verlaufen, so finden doch im besonderen kleine Variationen statt, indem sich der eine oder der andere schneller teilen kann. Analog damit ist das Verhalten des Hauptkernes und Blepharoplasten bei den Binucleaten.

Der Reusenapparat ist fast immer gut erkennbar. Seine Neubildung bei der Teilung (Fig. 10 u. 11) scheint so vor sich zu gehen, daß vom Macronucleus Kernstoffe ins Plasma übertreten, die in bestimmter Anordnung wohl die weitere Ausbildung bewirken. Doch konnte diese Ansicht, für die manche Bilder sprechen, bisher nicht bewiesen werden.

Fig. 15 zeigt eine Degeneration und Auflösung des Macronucleus, wie man sie häufig zu Gesicht bekommt. Überhaupt ist die Struktur des Macronucleus bei *Chilodon* sehr verschieden und man erhält die oben beschriebenen gut ausgeprägten Bilder nur bei vorsichtiger Fixierung und ständiger feuchter Überführung durch die Alkoholstufen. Die Art des Fixationsmittels und die Verwendung der Fixierungsflüssigkeit in angewärmtem oder kaltem Zustande ruft Abweichungen in der Struktur hervor, die es uns als äußerst wünschenswert erscheinen lassen, in den dabei vor sich gehenden Chemismus eindringen zu können. Weitere Untersuchungen hierüber, sowie über verschiedene Färbungen, sind bereits angestellt worden und sollen noch weiter verfolgt werden.

In Fig. 16 ist ein Exconjugant abgebildet. Der später degenerierende alte Macronucleus ist noch relativ gut erhalten, der neue geht aus einem Micronucleus durch Umbildung hervor. Das netzförmige Stadium sowie der weitere Verlauf der Macronucleusbildung ist bereits von Enriques (1908) richtig beschrieben worden, so daß ich hier nur auf seine Arbeit verweise.

Hiermit sei der Beschreibung der Teilungsvorgänge bei *Chilodon* vorläufig ein Ende gesetzt. Der Macronucleus von *Chilodon* ist ein echter Caryosomkern mit stark entwickeltem Außenkern.

Einen Typus, der dem oben beschriebenen etwas nahe kommt, hat Kasanzeff (1910)[1] bei *Loxodes* gefunden, indem nämlich hier der Macronucleus in der Kugelschale, getrennt durch einen Spaltraum, einen Binnenkörper (Caryosom) enthält, der mit Radialfäden in der Kugelschale gewissermaßen aufgehängt ist. Andererseits steht der Macronucleus von *Loxodes* den Macronucleen von *Lionotus* nahe, wie des weiteren in einer späteren Arbeit über *Lionotus* gezeigt werden wird. Dann soll auch vergleichsweise versucht werden, über die verschiedenen Strukturen der Macronucleen bei den Infusorien, insbesondere auch über caryosomähnliche Bildungen bei Vorticellen, nach dem Stande unserer jetzigen Kenntnis ein-

[1]) Kasanzeff gibt an, daß sich bei einer Methylgrün-Säurefuchsin-Färbung die Micronuclei stets grün, die Macronuclei rot färbten. Nach meinen Färbungsversuchen fällt das Resultat nicht nur bei verschiedenen Objekten, sondern auch bei wechselnden Mengenverhältnissen sehr verschieden aus, so daß man darauf kein großes Gewicht legen kann. Im allgemeinen wird es ja der Fall sein, wie auch Fauré-Fremiet (1908) angibt, daß sich Chromatinsubstanz (Microsomen) basophil erweist, Plastinsubstanz (Nucleolen, Macrosomen) dagegen mehr acidophil. Das Caryosom sowie die Micronuclei dürften aus einem Gemisch beider bestehen. Auch A. Fischer (1899) äußert sich auf p. 188 dementsprechend. Immer sind Mischfarben aller Nuancen vorhanden, so daß wir auf diesem Wege schwerlich weiterkommen.

heitliches Bild zu gewinnen. Während auf dem Stadium der Neubildung der Macronucleen aus den Micronucleen eine fast durchgehende Übereinstimmung hinsichtlich der Struktur besteht, treten im weiteren Verlaufe der Ausbildung der Macronucleen Differenzierungen auf, die zu mehreren Typen führen. Auch die Verwandtschaft der Caryosome der Macronucleen mit den Micronucleen soll bei *Lionotus* eingehend gezeigt werden.

Weitere Andeutungen dafür, daß der Macronucleus nicht nur trophische Funktionen nach der bisherigen Auffassung zu erfüllen hat, erwachsen uns auch aus der vorläufigen Mitteilung von Lewin (1910). Bei Zerschneidungsexperimenten an sich teilendem *Paramaecium caudatum* wurden Individuen erhalten, die nur einen Macronucleus besaßen, keinen Micronucleus. Trotzdem lebten diese Individuen weiter. Hier würden weitere Versuche zeigen können, wie Verfasser meint, daß bei Teilungen dieser Individuen ein Teilungszentrum vorhanden sein muß. Und wo sollten wir dieses weiter suchen, wie in einem Caryosom resp. Centriol im Macronucleus?! So sehen wir denn, daß auf beiden Wegen, sowohl dem cytologischen wie dem experimentellen, die Möglichkeit gegeben ist, das Wesen des Macronucleus und seine physiologische Funktion aufzuklären und in die Bedeutung des Kerndualismus der Infusorien einzudringen.

Herrn Prof. Hartmann möchte ich auch an dieser Stelle für sein freundliches Interesse an vorliegender Arbeit meinen ergebenen Dank abstatten.

Literaturverzeichnis.

ENRIQUES, P. (1908): Die Coniugation und sexuelle Differenzierung der Infusorien. II. Wiederconiugante und Hemisexe bei Chilodon. Arch. f. Protistenk. Bd. 12.

HARTMANN, M. (1910): Die Konstitution der Protistenkerne.

— (1910): Über eine neue Darmamöbe Entamoeba testudinis n. sp. Mem. Inst. Osw. Cruz Vol. 2 Fasc. I.

KASANZEFF, W. (1910): Zur Kenntnis von Loxodes rostrum. Arch. f. Protistenk. Bd. 20.

LEWIN, K. K. (1910): Nuclear relations of Paramaecium caudatum during the asexual period. (Preliminary communication.) Proc. Cambridge Philos. Soc. Vol. 16 Part I.

NÄGLER, K. (1909): Entwicklungsgeschichtliche Studien über Amöben. Arch. f. Protistenk. Bd. 15.

— (1911): Studien über Protozoen aus einem Almtümpel. I. Amoeba hartmanni n. sp. Anhang: Zur Centriolfrage. Arch. f. Protistenk. Bd. 23.

PROWAZEK, S. v. (1909a): Bemerkungen zu einer Theorie der Cytomorphe. Zool. Anz. Bd. 34.

— (1909b): Conjugation von Lionotus. Zool. Anz. Bd. 34.

Tafelerklärung.

Sämtliche Figuren sind bei Zeiss Imm. 0,2 mm und den Comp.-Oc. 8, 12 oder 18 mit dem Abbe'schen Zeichenapparat entworfen. Die Figuren sind nach mit Sublimatalkohol fixierten und mit Eisenhämatoxylin gefärbten Deckglaspräparaten gezeichnet.

Tafel 11.

Fig. 1—16. *Chilodon uncinatus.*

Fig. 1. Vegetatives Individuum mit normalen Kernverhältnissen.

Fig. 2. Überfärbter Macronucleus.

Fig. 3. Vergrößerter Macronucleus mit Caryosom und Centriol.

Fig. 4 u. 5. Centriol und Centrodesmose im Micronucleus.

Fig. 6—14. Kern- und Zellteilung.

Fig. 8. Centrodesmose im Caryosom des Macronucleus.

Fig. 9 u. 10. Faseriges Stadium des Macronucleus.

Fig. 11 u. 12. Deutlichbleiben des Centriols bei den Endstadien der Teilung des Macronucleus.

Fig. 13. Zellteilung.

Fig. 14. Individuum nach Beendigung der Teilung.

Fig. 15. Anormaler Kernbau.

Fig. 16. Exconjugant mit neu entstehendem Macronucleus.

Zur Lebensgeschichte des *Chloromyxum leydigi*, einer mictosporeen Myxosporidie.

(Teil I.)

(Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.)

Von

Rh. Erdmann.

(Hierzu Tafel 12—14 und 3 Textfiguren.)

Vier Fragen der Myxosporidienforschung sind seit der grundlegenden Arbeit THÉLOHANS (1895) noch nicht einwandfrei beantwortet:

1. Wie findet die Infektion der Fische mit Myxosporidien statt?
2. Wo und an welcher Stelle des Entwicklungskreises der Myxosporidien gehen Reduktion und Sexualakt vor sich?
3. Welche cytologischen Prozesse finden unmittelbar vor der Sporenbildung statt?
4. Gibt es eine vegetative Vermehrung der Jugendformen, und besitzen ältere Tiere noch die Fähigkeit, sich auf irgendeine Weise vegetativ fortzupflanzen?

Als ein durch seine Größe und grüne Farbe geeignetes Objekt, um an ihm diese Aufgaben ihrer Lösung entgegen zu führen, erwies sich *Chloromyxum leydigi* (Taf. 12 Fig. 11), das schon von MINGAZZINI (1890) und DOFLEIN (1898) morphologisch untersucht, aber nicht



in bezug auf die Art der Sporenbildung und das Auftreten des Sexualaktes erforscht war. Alle neueren Arbeiten der Myxosporidienforschung, Schröder (1907), Keysselitz (1908), Awerinzew (1908), Mercier (1909), Auerbach (1910) zeigen, daß nur durch Lebenduntersuchung in Verbindung mit cytologischen Studien am gefärbten Präparat eine Beantwortung dieser Fragen erzielt werden kann. Die Resultate der Untersuchung, die sich am lebenden Objekt gewinnen ließen, kommen allein in diesem ersten Teil zur Darstellung; der zweite Teil wird die cytologischen Ergebnisse, die am gefärbten Objekt sich finden ließen, umfassen, der dritte Teil ordnet die gewonnenen Resultate von *Chloromyxum leydigi* in die schon vorhandenen Ergebnisse der Myxosporidienforschung ein und bringt eine allgemeine Literaturbesprechung.

1. Entwicklungsgeschichtliches.

Erleichtert wurden meine entwicklungsgeschichtlich-morphologischen Beobachtungen, die ich während der Monate März, April, Mai 1911 an der zoologischen Station in Neapel anstellte, durch zwei Umstände: Es ist möglich, unter gewissen Vorsichtsmaßregeln *Chloromyxum* einige Tage auf dem Objektträger lebend zu erhalten; weiter kann man *Chloromyxum* zur Sporenbildung und zum Ausschlüpfen der Sporen auf Gallenplatten veranlassen.

Die Galle der Torpedo enthält nach Untersuchungen von Fredericq (1911 p. 43) 1 Proz. Sauerstoff, so daß dem Medium, in dem *Chloromyxum* lebt, fast freier Sauerstoff fehlt. Um nun auf künstliche Weise Sporenbildung und Ausschlüpfen der Sporen dieses Parasiten zu erreichen, muß das Medium annähernd dem natürlichen nachgebildet sein. Deshalb versuchte ich die Aufzucht von *Chloromyxum* auf Gallenplatten, die nach den Angaben von Baumann und Rimpau (1908 p. 140) mit einigen Veränderungen hergestellt wurden. Amöbenagar nach den Angaben von Frosch (1897) wurde auf 37° erhitzt. Galle, die denselben Temperaturgrad hatte und drei Tage nacheinander bei 37° eine Stunde lang sterilisiert worden war, wurde mit dem Agar vermischt, Platten gegossen und Röhrchen mit schräger Oberfläche hergestellt. Auf diese Platten und in die Röhrchen wurden Sporen gebracht, die mit Magensaft von *Torpedo marmorata* einen Tag behandelt waren. Auf die Sporen wurde dann frische Galle, die fast steril ist, gegossen und folgende Erscheinungen beobachtet. Auf der Platte, auf welche nur Sporen ausgesät waren (20. Mai 1911) erschienen am zweiten Tage schwach

amöboide, farblose 3—6 μ große Chloromyxen (Taf. 12 Fig. 1). Das Plasma derselben war fast ganz hyalin, kleine Fetttröpfchen bewirkten eine starke Lichtbrechung. Die leeren Sporenschalen waren nicht in der Nahtebene geöffnet, sondern in einem Winkel von 90° zu dieser Ebene. Weitere Veränderungen der Sporen konnte ich nicht auf den Platten entdecken, da sehr bald diese zarten Keime von Bakterien überwuchert wurden. Sie hatten meistens zwei Kerne, oft aber auch einen Kern, der beim Absterben deutlich sichtbar wurde (Taf. 12 Fig. 2, 4).

Auch in dem Gallengange von *Torpedo* selbst fand ich ähnliche Formen, die noch hyalin, den anf den Platten erzeugten Tieren glichen (Taf. 12 Fig. 5). Sie zeigten amöboide Bewegung.

Kleine *Chloromyxum*-Formen aus der Gallenblase von *Torpedo*, welche auch auf Platten gebracht worden waren, maßen 10 und 8 μ. Sie zeigten nach 7 Stunden Pseudopodienbildung. Ein Teil des Außenplasmas strömt auf eine bestimmte Stelle und bildet ein lappiges Pseudopodium. Größere Formen zeigten Vorbereitung zur Sporenbildung. Bei allen Formen, die schon stark erwachsen auf Gallenplatten übertragen wurden, zeigte sich, daß das Gewebe, in dem die Sporen sich gebildet hatten, nach Fertigstellen der Sporen zerfiel, vorher aber grenzten sich an einigen Stellen körnige, gelbgrüne Protoplasmamassen ab, die sich mit einer starken Membran umgaben und aus dem blaugrün gefärbten Muttertier sich stark abhoben. Nachdem das angrenzende Gewebe zerfallen war, teilten sich diese gelbgrünen, vegetativ entstandenen Tochtertiere nach 5—7 Stunden (Taf. 12 Fig. 15, 16 und Taf. 13 Fig. 17, 18). Eine Sporenbildung konnte ich bei ihnen nicht entdecken, obgleich ich diese Formen acht Tage lebend erhalten konnte.

Die Lebendbeobachtung jüngerer *Chloromyxum*-Formen auf Gallenplatten, bei denen die Sporenbildung nach und nach eintrat, führte weiter. Nachdem die Sporen einen Tag mit Magensaft und hierauf mit Galle auf Platten behandelt waren, zeigte jede Spore nach $5^1/_4$ Stunden vier ausgestreckte Polfäden. Der Prozeß scheint so langsam vor sich gegangen zu sein, weil die Parasiten, als sie auf die neuen Platten übertragen wurden, noch nicht mit der Sporenbildung fertig waren; denn manche der Sporen hatten noch ein stark blasiges Aussehen.

Bei längerer Beobachtung von Tieren, die im Begriff waren Sporen zu bilden, zeigten sich helle homogene Stellen im Gewebe, die sich aus vielen Kernen zusammensetzten (Taf. 14 Fig. 22). Diese

hellen Stellen teilten sich in kleine Blasen, die — wie die Lebendphotographie zeigt — zwei Kerne enthielten. Weitere Einzelheiten waren in diesen Blasenzellen nicht bei Lebendbeobachtung durch Mikrophotogramme darstellbar (Taf. 13 Fig. 2, 3, 4). Die Lebenduntersuchung zeigt also, daß Kernvereinigung bei *Chloromyxum* nicht direkt vor der Sporenbildung stattfindet, sondern, wie vorhin gezeigt, erst in dem aus der Spore geschlüpften Keim.

Aus den Beobachtungen des Parasiten auf dem Objektträger, die ich zur Kontrolle des Versuches auf Gallenplatten anstellte und zu dem *Chloromyxum* aus *Scyllium caniculi* diente, ist folgendes wichtig:

Es ist, wie gesagt, möglich, einige Tage *Chloromyxum* auf dem Objektträger unter dem Deckglas lebend zu erhalten, wenn man zuerst Magensaft und später Galle hinzusetzt. Erst nach der Behandlung mit beiden Flüssigkeiten wird der Amöboidkeim frei, und man kann auf dem Objektträger zweikernige Keime beobachten. Das Freiwerden des Amöboidkeims geschieht auf folgende Weise. Das Plasma desselben zieht sich stark zusammen. Es entsteht eine osmotisch sich anders verhaltende Flüssigkeit im Innern der Spore, als außerhalb. Die Sporenwände reißen (Taf. 12 Fig. 8) nicht in der Nahtlinie, sondern in einer um 90° zu ihr geneigten Ebene. Die Ränder sind zackig und von oben gesehen gleicht die so behandelte Spore einer geöffneten Dose, in der sich in der Mitte der Keim befindet (Taf. 12 Fig. 8). Die obere Schale zieht sich stark auseinander und der Keim liegt jetzt in einer flachen gezackten Schale, aus der er sich entfernt (Taf. 12 Fig. 9, 10). Die leeren Schalen kann man leicht finden.

Ebenso leicht wie das Ausschlüpfen des Amöboidkeims (Taf. 12 Fig. 12, 13) sind einige Phasen der Sporenbildung selbst zu beobachten. Genau wie auf den Gallenplatten bilden sich Bezirke mit vielen Kernen, die sich in Blasen, die stark lichtbrechend sind, anordnen, sich in kleineren Blasen aufteilen und dann voneinander abrücken. Die kleineren Blasen erscheinen dann umgeben von einem Hof hyalinen Plasmas. Das Innere der Blase ist stärker blaugrün gefärbt. Auf anderen Stellen sieht man, daß der Hof sich in einzelne Stellen abgrenzt, sich vergrößert, und man kann bei besonders günstigen Sporoblasten in diesem Hof acht Zellen unterscheiden, deren Entstehung und Schicksal erst durch die cytologische Untersuchung festgestellt werden kann.

Auch hier konnte bei älteren *Chloromyxum*-Formen die Bildung der stark gekörnten g e l b g r ü n e n vegetativen Fortpflanzungsformen,

beobachtet werden, die aus dem Muttertier herausrückten und nach einiger Zeit sich zu teilen anschickten.

Es geht also aus meinen Lebendbeobachtungen hervor, daß bei *Chloromyxum leydigi* aus *Torpedo marmorata* eine zweikernige Spore ausschlüpft. Sie wird einkernig und muß dann in den Gallengang des Wirtstieres eintreten. Da ich nicht künstlich das junge *Chloromyxum* veranlassen konnte, in Epithelzellen einzuschlüpfen, wie es in der Natur vor sich geht, so mußten diese Tiere hier auf der Platte und dem Objektträger zugrunde gehen. Die ausgeschlüpften Sporen sind hyalin; in der Galle selbst habe ich dagegen frei flottierend nur hellblaugrün gefärbte Formen gefunden, von denen die kleinsten 4 μ groß waren. In abgestoßenen Zellen der Gallenblase traf ich dieselben 4 μ großen Formen, die hier schon leicht grün gefärbt waren (Taf. 12 Fig. 14). Ich muß also Doflein (1890 p. 759) beistimmen und die Bestätigung Auerbach's (1910 p. 105) wiederholen, daß für kurze Zeit ein epitheliales Stadium bei Myxosporidiem vorkommen kann.

Dagegen waren die kleinen Formen (Plattenversuch vom 6. Mai), die 13 Tage alt waren und deren Alter ich, weil sie in einem von mir künstlich infizierten *Torpedo* entstanden waren (siehe Versuch 2 p. 155), genau bestimmen konnte, fähig, nach 7 Stunden Sporen zu bilden. Meistens waren diese kleinen Formen nur fähig, einige Sporen zu bilden (Taf. 14, Fig. 20). Also zwischen dem Ausschlüpfen der Spore und dem 13. Tage des Lebenslaufes von *Chloromyxum leydigi* liegt ein Zeitraum, in dem dieser Parasit die Zellen der Gallenblase befällt. Wahrscheinlich ist die Nahrung in den Zellen der Gallenblase für ihn geeigneter als die in der stark konzentrierten Galle selbst; auch wird mit jeder Entleerung der Galle, nach der Nahrungsaufnahme, eine Anzahl Parasiten in den Mitteldarm gelangen. In den Zellen des Gallenblasenepithels sind die jungen Tiere geschützt und können nicht aus der Gallenblase entfernt werden.

Die jungen Formen fallen mit dem Epithel aus der Gallenblasenwand in ihr Lumen. Die *Chloromyxum*-Formen werden frei, wenn sie wachsen. Sie schreiten dann früher oder später zur Sporenbildung. Die fertige Spore (Taf. 12 Fig. 6, 7) löst sich durch ihren Schwanzanhang aus dem zerfallenden Muttertiere. Die von Thélohan angegebenen Zeichnungen auf der Schale werden erst später sichtbar, sowie die Spore längere Zeit aus dem Muttertier befreit wird.

2. Infektionsweg.

Die Frage, wie die Infektion der Wirte mit Myxosporidien stattfindet, muß in ihrer Beantwortung getrennt behandelt werden, je nachdem die Myxosporidien Parasiten der Süßwasserfische oder der Meeresfische sind. Die auffällige Erscheinung, daß der Sitz der meisten Myxosporidien der Süßwasserfische die Kiemen, die Nieren und die Harnblase, sehr selten die Gallenblase ist, macht es wahrscheinlich, daß die Infektionsart und der Infektionsweg bei diesen Tieren sich von denen der Meeresfische unterscheiden. Denn soweit es bis jetzt bekannt ist, befinden sich die meisten Myxosporidien der Meeresfische in der Gallenblase. Schon Nägeli (1857) nahm an, daß die Infektion durch Nahrungsaufnahme stattfindet. Diesen Gedankengang haben die verschiedensten Forscher, wie Thélohan, Gurley, Léger und in jüngster Zeit Auerbach aufgegriffen und experimentell durch myxosporidienhaltiges Material, das in den Darmkanal eingeführt wurde, Infektionen zu erzeugen versucht.

Da in der Arbeit von Auerbach (1910) eine ausführliche Beschreibung sämtlicher bis jetzt stattgefundenen Infektionsversuche sich befindet, so wende ich mich gleich zu den eigenen Versuchen Auerbach's, um von hier aus einen Vergleich mit dem meinigen zu finden. Auerbach hatte in Bergen an Gadiden Myxidienarten verfüttert. Um einigermaßen sicher zu gehen, daß er parasitenfreies Material erhielt, ließ er die Tiere 2—3 Wochen in den Aquarien und fing erst nach gründlicher Untersuchung des Bodenschlamms und des Mageninhalts der Fische auf Sporen seine Versuche an.

Meine Nachprüfung ergab für andere Formen, daß *Sygnathus acus*, *Crenilabrus parvus*, *Caris julis*, *Blennius gatteromyce* nach Ablauf dieser Zeit nicht parasitenfrei waren. Ebenso bewies die zwei Monate in Neapel kontrollierte Lebensgeschichte eines *Scyllium caniculi*, daß diese Methode, parasitenfreies Material zu erhalten, nicht einwandfrei ist. Der ausgewachsene Hai war drei Wochen einzeln in einem Bassin gehalten, mit Muskelfleischstücken von Fischen gefüttert und ihm dann eine Darmfistel angelegt worden. Sechs Wochen lebte er allein im Bassin, mit vollständig kontrollierter Fütterung, mit dieser Fistel weiter. Nach seinem Tode war seine Gallenblase stark angefüllt mit *Chloromyxum leydigi*. Der aus diesen Tatsachen zu ziehende wichtige Schluß liegt auf der Hand. Er lehrt, daß diese Methode Auerbach's, Neuinfektionen zu erzeugen, nicht ganz einwandfrei

ist. AUERBACH's zweiter Ausweg, parasitenfreies Material zu erhalten, bestand darin, daß er möglichst kleine Fische zur Infektion benutzte, da er gefunden hatte, daß 20—25 cm lange Gadiden immer parasitenfrei seien.

Daher benutzte ich zu meinen Versuchen junge *Torpedo ocellata*, ungefähr 31, 40, 42, 50 cm lang. Ich kann nur die Behauptung AUERBACH's bestätigen, daß junge Tiere nicht mit Myxosporidien infiziert sind.

Drei verschiedene Experimentreihen, den Infektionsweg von *Chloromyxum* zu finden, habe ich angestellt:

1. durch Verfütterung von Sporen in Gelatinekapseln,
2. durch Verfüttern von jungen und älteren Parasiten selbst in Gelatinekapseln,
3. durch Anlegung einer Darmfistel und nachherigem Verfüttern von Chloromyxumsporen und Tieren in Gelatinekapseln suchte ich den Weg des Parasiten in seinem Wirt zu verfolgen.

Diese Versuche lehnen sich an die Art und Weise an, wie höchstwahrscheinlich die Infektion in der Natur stattfindet. Dies konnte ich aus einigen später zu berichtenden, zufälligen Beobachtungen entnehmen.

Ich greife nur drei Versuche aus den von mir gemachten heraus, weil die Darstellung ihrer Ergebnisse genügt, um die strittige Frage zu klären. Auch THÉLOHAN's und AUERBACH's Experimente habe ich wiederholt, und ihre Ergebnisse konnte ich für die von mir untersuchte Form zum Teil bestätigen.

1. Versuch: Am 28. März 1911 fünf *Torpedo ocellata* gefüttert mit Sporen von *Torpedo marmorata* in Gelatinekapseln. Am 30. März drei Tiere gestorben, am 24. April die beiden übrigen noch einmal gefüttert, am 25. April zum dritten Mal gefüttert, am 27. April noch einmal gefüttert. Am 6. Mai 1 Torpedo getötet, am 12. Mai fünfter Torpedo aus der ersten Infektion gestorben. Hatte reichlich Sporen und Parasiten.

2. Versuch: Am 21. April fünf *Torpedo ocellata* neu infiziert mit Gelatinekapseln, in denen sich junge und alte *Chloromyxum* befanden. Am 25. April infiziert, am 27. April neu infiziert. Am 3. Mai zwei *Torpedo* davon gestorben, am 6. Mai drei *Torpedo* gestorben. Resultat nach der Untersuchung: alle drei infiziert, kleine Formen, bei denen noch keine Sporen gebildet waren, auch keine Sporen allein in der Gallenblase.

Soweit die Untersuchung bis jetzt stattgefunden hat, zeigen alle *Torpedo* an, daß sie infiziert sind. Wie diese Infektion



stattfindet, läßt sich an den nach bestimmten Zeiträumen getöteten Tieren ungefähr rekonstruieren. Der Torpedo hat einen sehr langen unverhältnismäßig breiten Ösophagus und Magen (Textfig. A). Es ist also leicht, mit Hilfe einer Sonde die 1 cm langen Gelatinekapseln, welche das infizierte Material enthalten, bis an die erste Krümmung des Darmkanals zu stoßen, ohne das Tier zu verletzen. Der Torpedo wurde hierzu auf einen besonders konstruierten Tisch gelegt, festgebunden, beständig Wasser in die Kiemen geführt und dann zwei oder drei solche Kapseln auf diese Weise in den Darm gestoßen. Jedes Tier wurde in ein kleines Becken gesetzt, um zu sehen, ob nicht die Gelatinekapseln wieder aus dem Magen entfernt wurden. Diese mühsame, aber durchaus notwendige Art der Infektion wurde sowohl bei Versuch 1 wie Versuch 2 wiederholt angewandt, nur mit dem einen Unterschied, daß einmal Sporen und das andere Mal lebende Tiere in allen Stadien verfüttert wurden.



Textfig. A. Darmkanal von *Torpedo marmorata*.

Noch am zweiten Tage fanden sich im Mitteldarm die grünen Reste des eingeführten Materials. Die mikroskopische Lebenduntersuchung zeigte bei dem ersten Versuch folgendes:

Zum Teil waren die Sporen noch unverändert, zum Teil hatte sich der Amöboidkeim in ihnen abgerundet, zum Teil lagen leere Sporenschalen vermischt mit Speiseresten an dieser Stelle. Genau wie AUERBACH (1910) möchte ich hier noch betonen, daß im Magen keine Veränderung der Sporen geschieht, außer daß in manchen die jungen Keime sich abrunden. Die Gallengänge und die Gallenblase der untersuchten Torpedo zeigten junge 5—6 μ große Formen am 6. und am 10. Tage nach der Infektion Diese jungen Formen zeichneten sich nach Versuch 1 durch ihre stark blaugrüne Farbe aus. Sie schienen zweikernig zu sein. Doch auch einkernige Formen habe ich gefunden. Einkernige Formen entstehen also aus zweikernigen, da der Amöboidkeim der Spore zweikernig ist. Ob der umgekehrte Weg, wie bisher angenommen, wirklich stattfindet, lehrten mich diese Ver-

suche nicht erkennen. Der am 6. Mai getötete *Torpedo* der ersten Infektion hatte reichlich Parasiten, die anfingen Sporen in seiner Gallenblase zu bilden. Bis zur normalen Sporenbildung scheinen also hiernach 39 Tage notwendig zu sein, wenn die erste Fütterung schon infizierte.

Andere Resultate ergab der zweite Versuch. Auch hier fanden sich noch am zweiten Tage die Spuren der Infektion im Mitteldarm. Aber außer denselben Erscheinungen, die bei Versuch 1 von den Sporen beschrieben sind, wurde hier folgende bis jetzt noch nicht beobachtete Erscheinung konstatiert. Es fanden sich im Mitteldarm 20, 15 und 30 μ große Formen von *Chloromyxum*, die eine stark gelbgrüne Farbe hatten, deren Plasma gekörnt war und die anscheinend mit einer Hülle umgeben waren. In den Gallengängen und in der Gallenblase befanden sich die gleichen Formen, manche konnten beobachtet werden in allen Stadien der Teilung. Sporenbildung war bei diesen nie zu konstatieren. In den größeren Formen von *Chloromyxum*, die in Gelatinekapseln eingeführt waren, fanden sich auch diese gelbgrünen abgekapselten, stark gekörnten Keime vor, über deren Bedeutung ich mir, als ich sie zum ersten Male sah, keine Vermutung erlauben konnte. Erst, um es gleich hier zu bemerken, durch meine vorher geschilderten Kulturen auf Gallenplatten. bei denen sich bei älteren Tieren dieselben Vorgänge wiederholten, wurde es mir klar, daß ältere Exemplare von *Chloromyxum*, wenn sie in ungünstige Lebensbedingungen kommen, also entweder in den Mitteldarm eines Fisches oder auf Gallenplatten, das Vermögen haben, vegetative Vermehrungsformen zu bilden, die sich stark in Aussehen, Bau und Form von den vegetativen Formen des Muttertieres unterscheiden. Diese Tatsache wird zu einem leichteren Verständnis der Infektionsweise bei **Seefischen** führen. Außer diesen eben beschriebenen Formen zeigten auch Chloromyxumformen aus Fischen, die mit den Gelatinkapseln gefüttert waren, folgende Erscheinung: sie alle hatten Sporen gebildet, obgleich die vegetativen Formen verhältnismäßig klein waren. Auch dieses stimmt mit meinen Ergebnissen auf Gallenplatten überein. Hier schritten auch junge Formen, die unter normalen Umständen noch nicht Sporen gebildet hätten, zur Sporenbildung.

Diese beiden durch den zweiten Versuch und durch die Zuchtergebnisse auf Gallenplatten bestätigten Erscheinungen ermöglichen nun zusammen mit den zufälligen Befunden, die ich am getöteten *Torpedo* machte, uns eine Vorstellung von der Art der Infektion, wie sie in der Natur stattfindet, zu bilden.



Textfig. A zeigt den zum Teil aufgeschnittenen Darmkanal eines frisch gefangenen Torpedo. In seinem Darmkanal befand sich fast ganz unverletzt der auf Textfig. B abgebildete Fisch, der wahrscheinlich ein *Merluccius* war. Der Torpedo verschlingt die Fische ganz. Dieses Exemplar hatte ich schon zwei Tage in dem Bassin. Der *Merluccius* zeigte starke Spuren einer *Chloromyxum*-Infektion. Während der langen Periode, in welcher die Nahrung verdaut wird, hat diese mit *Chloromyxum* infizierte Nahrung genügend Zeit, sich zu verändern. Die in dem Fisch befindlichen Parasiten werden, da ihr Wirt gestorben, die Galle geronnen ist, dazu schreiten, Schutzzustände zu bilden, und sicher werden

1. die beschriebenen vegetativen Körper gebildet,
2. wenn noch keine Sporenbildung vorhanden ist, reichliche Sporen.



Textfig. B. In dem Darmkanal von *Torpedo marmorata* gefundener angedauter Fisch (Merluccius).

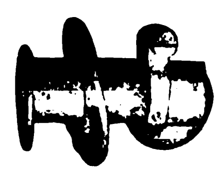
Schon Mingazzini (1890) hatte beobachtet, daß die Sporenbildung in wenigen Stunden — bei abnormen Zuständen so z. B. unter dem Deckglas — stattfinden könne (1890 S. 90). Die älteren Formen sterben ab, die Spore befreit sich und bleibt jetzt im Mitteldarm. Ist das gefressene Tier verdaut, so ist es dem eingeschlossenen Amöboidkeim möglich, sofort vom Mitteldarm aus, nachdem die Galle infolge der Nahrungsaufnahme des neuen Wirtes in den Mitteldarm gekommen und die Sporenschale geplatzt ist, die Gallengänge hinaufzukriechen und dort sich in das Gallenblasenepithel einzunisten, oder auch den vegetativen Dauerzuständen ihre Hüllen zu verlassen und sich zu teilen. Ganze Ketten von solchen Teilungsformen lassen sich im Mitteldarm beobachten.

3. Versuch: Durch die freundliche Hilfe des Herrn Professor Dr. Cohn-

HEIM war es mir möglich, folgenden Versuch anzustellen: zwei *Torpedo ocellata*, annähernd 50 cm lang, wurden, nachdem sie zwei Wochen im Aquarium gehalten waren, operiert. Der in Textfig. D abgebildete Apparat, der versilbert und nach den Angaben von Herrn Professor SOLIMA hergestellt ist, wurde mittels einer Tabaksbeutelnaht in die Mitteldarmwand des *Torpedo* eingefügt. (Siehe Textfig. C). Zwei Tage nach der Operation wurden diesen Tieren Gelatinekapseln mit Chloromyxumsporen und Chloromyxumtieren eingegeben und die abgesonderte Flüssigkeit, welche sich in einem an den Hals des Apparates gebundenen Gummibeutelchen gesammelt, studiert. Am ersten Tage fanden sich nur unveränderte Sporen, am zweiten Tage lebende kleine



Textfig. C. Darmkanal von *Torpedo ocellata* mit eingesenkter Kanüle.



Textfig. D. Kanüle.

hyaline amöboide Formen, die denen auf den Gallenplatten gesehenen glichen (Taf. 12 Fig. 3). Infolge der Operation war die in dem Hals des Apparats und dem Gummibeutelchen gesammelte Flüssigkeit stark mit Leukocyten durchsetzt, so daß die allergrößte Vorsicht beim Studium solcher Präparate notwendig ist. Diese Formen waren, soweit ich aus der Lebendbeobachtung schließen konnte, ein- oder zweikernig. Weitere Einzelheiten müssen erst aus der cytologischen Untersuchung sich ergeben. Der Vorzug dieser Methode beruht darin, daß ein großer Teil der eingeführten *Chloromyxum* nicht tiefer in den Mitteldarm hineingeht, als bis zuder Stelle, an der die Schnittwunde ist, und so die reichliche Vermischung mit Nahrungsresten und Schleim, die fast immer den Spiraldarm des Torpedos füllen, unterbleibt. Die Speisereste, die abgestoßenen Zellen, der ungemeine Fettreichtum des Darminhalts können, wenn

man einfache Mitteldarmversuche macht, eine Beurteilung erschweren, ob gefundene Stadien in den Entwicklungskreis gehören, so daß alle von mir erwähnten Methoden kombiniert werden müssen, um ein korrektes Bild des Infektionsweges und Entwicklungskreises zu erhalten.

Durch diese geschilderten Experimente ist nun die Antwort auf einige der im Eingang gestellten Fragen ermöglicht.

Der Sexualakt, wenigstens die Caryogamie, findet bei *Chloromyxum* beim Ausschlüpfen des Keims aus der fertigen Spore statt, er ist eine Pädogamie höheren Grades. Der Sporenbildung geht die Abgrenzung von Plasma um zwei Kerne voraus, die nicht verschmelzen.

Die älteren Formen sind fähig, vegetative Dauerzustände zu bilden, die Auto- und Fremdinfektionen bewirken können.

Die Infektion findet unzweideutig bei *Torpedo* durch den Darmkanal statt.

Diese Antworten auf die von mir aufgestellten Fragen sind vielleicht geeignet, die stark mit Widersprüchen durchsetzten Auffassungen in der Myxosporidienforschung zu klären. Es bleibt vorher noch übrig, ehe ich eine Besprechung der aufgestellten Probleme versuche, meine Resultate an der Hand der gefärbten Präparate nachzuprüfen und zu erweitern.

Nicht genug kann ich aber jetzt schon an dieser Stelle den Herren der Zoologischen Station für das Entgegenkommen danken, mit dem das für jede experimentelle Arbeit so umfangreiche Material mir zur Verfügung gestellt wurde. Weiter möchte ich einem hohen Ministerium der geistlichen und Medizinalangelegenheiten meinen Dank aussprechen, das durch eine Beihilfe und durch die Gewährung eines Arbeitsplatzes mir diese Arbeit ermöglichte.

Literaturverzeichnis.

AUERBACH, M.: Die Cnidosporidien (Myxosporidien, Actinomyxidien, Microsporidien). Eine monographische Studie. Leipzig (Werner Klinkhardt) 1910.

— Ein neuer Myxobolus im Brachsen (Abramis brama L.). Zool. Anz. Bd. 31 1907.

— Biologische und morphologische Bemerkungen über Mxyosporidien. Zool. Anz. Bd. 35 1909.

— Bericht über eine Studienreise nach Bergen (Norwegen). Verhandlungen des Naturw. Vereins zu Karlsruhe. Bd. 21 1909.

— Bemerkungen über Myxosporidien heimischer Süßwasserfische. Zool. Anz. Bd. 32 1907.

AWERINZEW, S.: Studien über parasitische Protozoen I—VII. Trav. Soc. Natural. St. Pétersbourg. Bd. 28 1908 Lief. 2 (по-русски, съ нѣмецкимъ резюмэ).

— Id. I u. II. Arch. f. Protistenk. 1908 Bd. 14.

BAUMANN u. RIMPAU: Bakteriologische Blutuntersuchungen bei Typhus insbesondere durch Gallekulturen. Zentralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Abt. I. Originale. Bd. 44 1908.

COHN, L.: Über die Myxosporidien von Esox lucius und Perca fluviatilis. Zool. Jahrb. Abt. f. Morphol. usw. Bd. 9 1896.

DOFLEIN, F.: Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. III. Über Myxosporidien. Zool. Jahrb. Abt. f. Anatomie u. Entwicklungsgesch. Bd. 11 1890.

FRÉDERIQ, L.: La théorie de la diffusion suffit à expliquer les échanges gaseux de la respiration. Arch. Internationales de Physiologie Vol. X Fasc. IV 1911.

FROSCH, P.: Zur Frage der Reinzüchtung der Amöben. Zentralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Bd. 21 1897.

JOSEPH, H.: Chloromyxum protei n. sp., ein in der Niere des Grottenolms parasitierendes Myxosporidium. Arch. f. Protistenk. Bd. 8 1896.

KEYSSELITZ, G.: Die Entwicklung von Myxobolus pfeifferi. I u. II. Arch. f. Protistenk. Bd. 11 1908.

LÉGER, L.: Sur une nouvelle maladie Myxosporidienne de la truite indigène (Chloromyxum truittae n. sp.). C. R. Ac. Sc. Paris 1906 T. 142.

MERCIER, L.: Phénomènes de sexualité chez Myxobolus pfeifferi (note préliminaire). Compt. rend. Soc. de Biol., Paris 1906 T. 60 p. 427.

— Contribution à l'étude de la sexualité chez les myxosporidies et chez les microsporidies. Mémoires Acad. Royale de Belgique. Classe des sciences. Série II 1909 T. II. Coll. in 8°.

MINGAZZINI, P.: Sullo sviluppo dei Myxosporidi. Boll. Soc. Natural Napoli S. 1 Vol. 4 1890.

SHIWAGO, P.: Der heutige Stand der Frage über die geschlechtlichen Vorgänge bei den Myxo- und Microsporidien. Biologische Zeitschrift Bd. 2 H. 2 Moskau 1911.

SCHRÖDER, O.: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Myxosporidien. Arch. f. Protistenk. Bd. 9 1907.

THÉLOHAN, P.: Recherches sur les Myxosporidies. Bull. Scient France et Belgique. Paris 1895 T. 26.

Tafelerklärung.

Tafel 12.

Sämtliche Figuren sind nach dem Leben gezeichnet oder mikrophotographiert. Homog. Imm. 2 mm. Ocular 4. Objekttischhöhe. Vergrößerung also ungefähr 650 fach.

Fig. 1. Auf Gallenplatte zum Ausschlüpfen gebrachte Spore, 2 Tage alte Keime von *Chloromyxum leydigi* aus *Torpedo marmorata.*

Fig. 2. Amöboidkeime von *Chloromyxum leydigi* (*Torpedo marmorata*).
Fig. 3. Fig, 2, 4 auf Gallenplatte gezogen (3 Tage alt).
Fig. 4. Fig. 3 aus Spiraldarm nach 2 tägiger Infektion.

Fig. 5. *Chloromyxum leydigi* aus *Torpedo ocellata.* Form aus Gallengang.

Fig. 6. Spore von *Chloromyxum leydigi* aus *Scyllium caniculi* (Polfäden sichtbar).

Fig. 7. Spore von *Chloromyxum leydigi* aus *Scyllium caniculi.*

Fig. 8. Dieselbe, halbgeöffnet.

Fig. 9. Dieselbe, geöffnet.

Fig. 10. Dieselbe, vor dem Ausschlüpfen.

Fig. 11. *Chloromyxum leydigi*, altes Exemplar (*Torpedo marmorata*).

Fig. 12, 13. Ausgeschlüpfte Keime von *Chloromyxum leydigi* aus *Scyllium caniculi.*

Fig. 14. In das Lumen der Gallenblase abgestoßene Zellen mit jungen Parasiten (*Chloromyxum leydigi* aus *Torpedo marmorata*).

Fig. 15, 16. Vegetative Fortpflanzungskörper von *Chloromyxum leydigi* aus *Torpedo marmorata.*

Tafel 13.

Fig. 17. Zerfallendes *Chloromyxum leydigi.* a) Fertige Spore, sich aus dem Gewebe lösend. b) sich ablösende vegetative Form.

Fig. 18. *Chloromyxum leydigi* vor der Sporenbildung. a, b) sich ablösende vegetative Formen. c) Sporoblasten, zwei sich zusammenlegende Kerne.

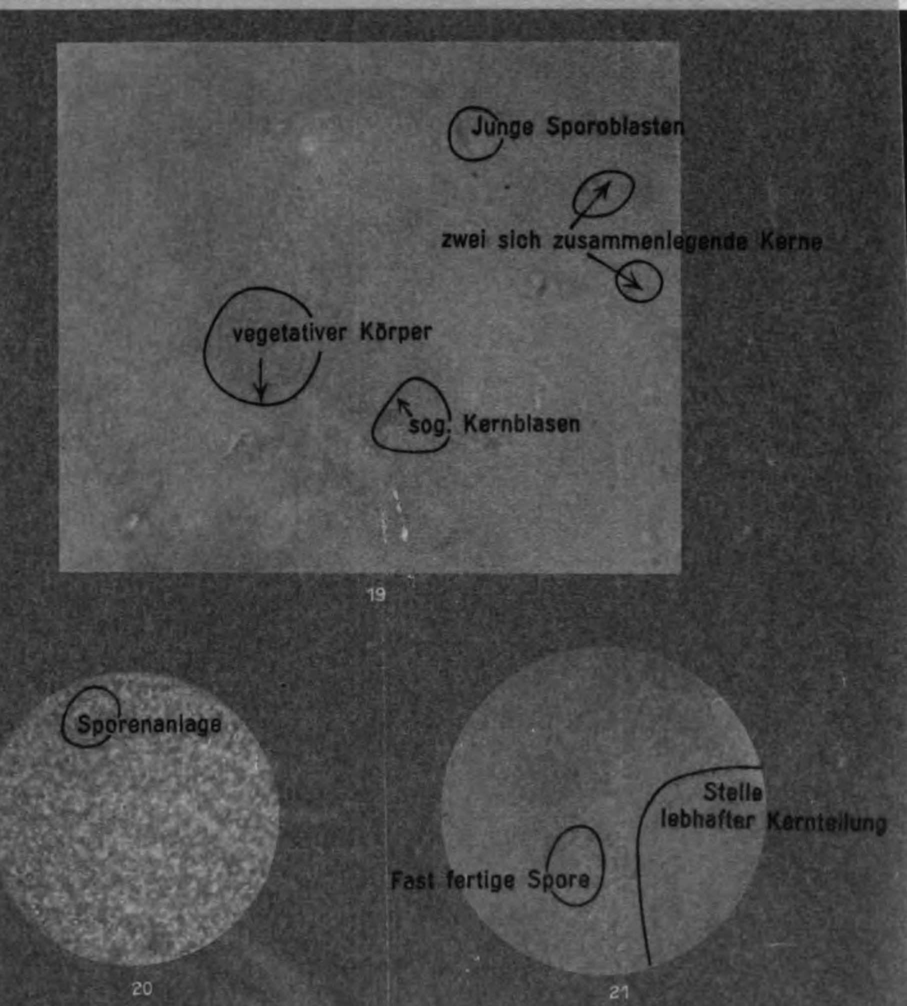
Tafel 14.

Fig. 19. *Chloromyxum* mit Sporoblasten. a) Zwei sich zusammenlegende Kerne. b) Kernblasen.

Fig. 20. Junges *Chloromyxum* mit Anfängen der Sporenbildung.

Fig. 21. Sporoblast vor Bildung der Sporenhüllen.

Fig. 22. Stelle lebhafter Kernteilung.



19

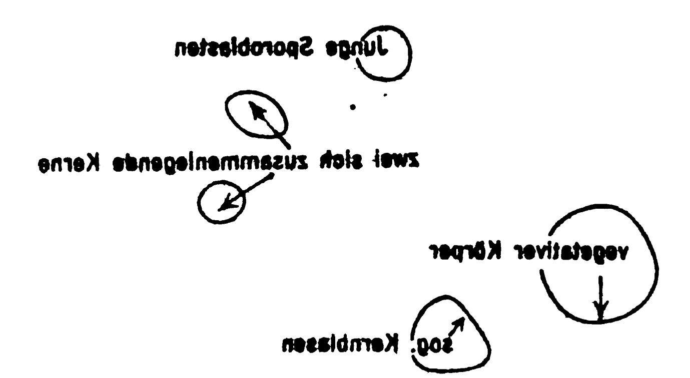
20

21

22

Erdmann.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.





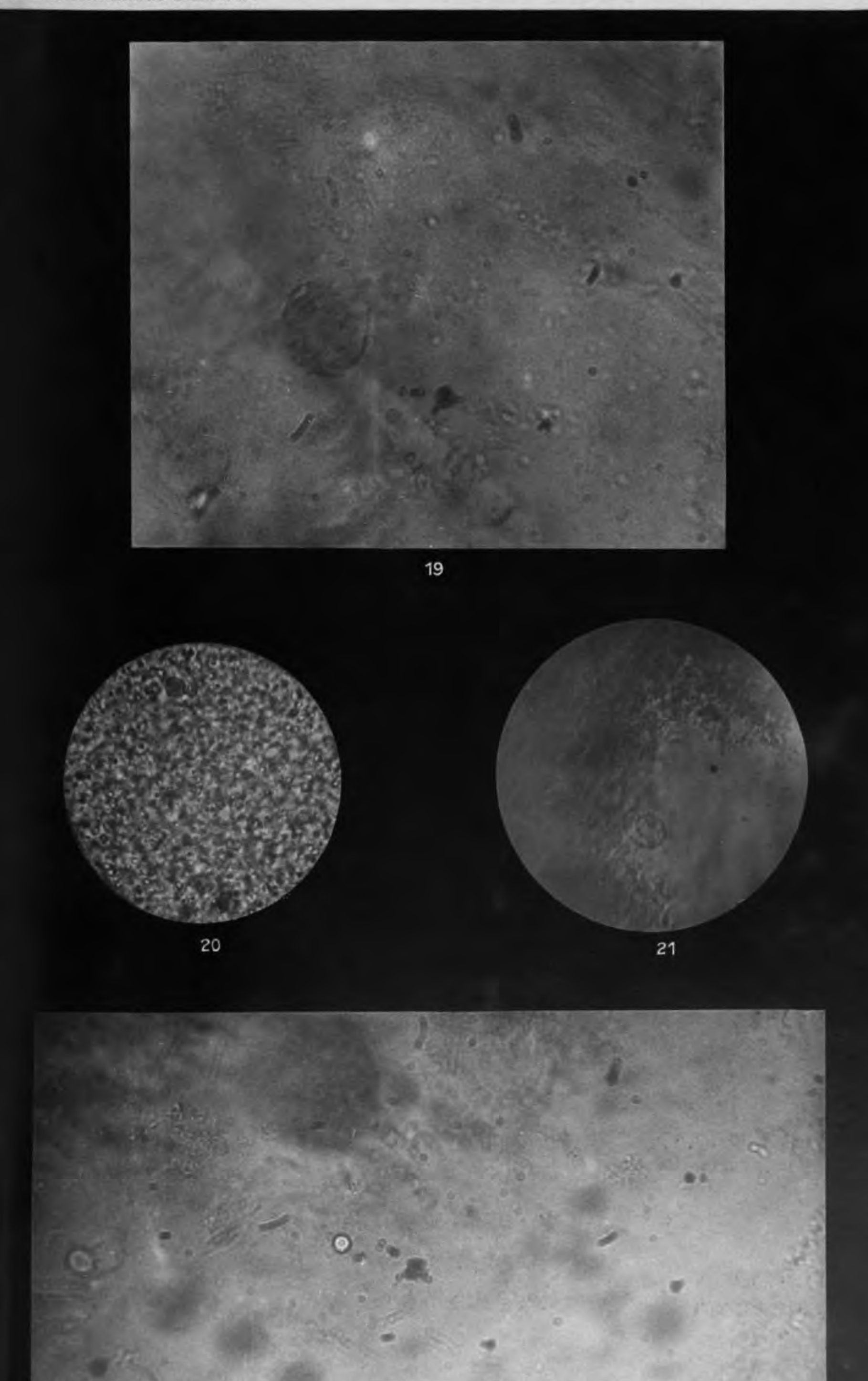


zwei sich zusammenlegende
Kerne

Stelle lebhafter Kernteilung

zwei sich
zusammonlegende Kerne

sog. Kernblasen



19

20

21

22

Erdmann.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

(Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.)

Untersuchungen über parasitische Amöben.

II. *Entamoeba tetragena* Viereck.

Von

Max Hartmann.

(Hierzu Tafel 15 u. 16 und 4 Textfiguren.)

Einleitung.

Das im ersten Teil dieser Untersuchungen angekündigte baldige Erscheinen des zweiten Teiles hat sich aus verschiedenen Gründen weiter hin gezogen. Zunächst war ich bei nochmaligem Studium der Schaudinn'schen Präparate sowie meiner eigenen zu *Entamoeba histolytica* gerechneten Fälle zu der Überzeugung gekommen, daß es sich auch hier mit Ausnahme eines Falles um degenerierende Formen von *Entamoeba tetragena* handle, wie ich das schon früher vermutet hatte (s. I. Teil, Einleitung). Sodann war mir an dem Vorkommen der von mir in der vorläufigen Mitteilung beschriebenen Autogamie Zweifel aufgetreten, die eine nochmalige gründliche Untersuchung des gesamten Materials wünschenswert machten. Ich ergriff daher mit Freude die Gelegenheit, das große Material mitzuuntersuchen, das Herr Withmore in Manila und Saigon gesammelt hatte, um es in meinem Laboratorium zu studieren. Das Studium dieses Materials ergab nun, das bei allen untersuchten Dysenteriefällen *E. tetragena* vorlag, wie das Withmore (1911 b) selbst in einer kurzen Arbeit in diesem Archiv niedergelegt hat. Desgleichen wurde ich durch das Studium der Withmore'schen Präparate in der Auffassung bestärkt, daß die Bilder die von mir bei *Entamoeba tetragena* und anderen bei verwandten Entamöben als Autogamie gedeutet worden

waren, nicht den Beweis für einen derartigen Befruchtungsvorgang erbringen können, sondern daß es sich vermutlich um Degenerationsformen handle.

Bezüglich der Literatur über die *Entamoeba tetragena* sei auf den ersten Teil dieser Arbeit hingewiesen (HARTMANN 1909); nachgeholt sei, daß die Cysten unserer Amöbe schon vor ihrer Beschreibung durch VIERECK und mich SCHAUDINN und HUBER bekannt waren, wie aus der Arbeit von HUBER (1909) hervorgeht, während sie die vegetativen Formen gleich VIERECK nicht von *Entamoeba coli* (resp. *E. histolytica*) unterscheiden konnten. Wie ich bei dem Studium der Präparate aus SCHAUDINN's Nachlaß mich überzeugen konnte, hat er die vegetativen Formen teils für *Entamoeba coli*, teils für *Entamoeba histolytica* gehalten. HUBER hatte gleichfalls eine Doppelinfektion und zwar der beiden Dysenterieamöben angenommen, was offenbar nicht zutrifft. Wie schon oben erwähnt, haben meine weiteren Untersuchungen sowie die von WITHMORE mich zu der Überzeugung geführt, daß fast alle Fälle von Amöbendysenterie durch *Entamoeba tetragena* verursacht werden und daß es sich auch in den meisten Fällen von SCHAUDINN die mir zur Verfügung standen nicht um *E. histolytica*, sondern um *E. tetragena* handelt.

Auch der Fall, der JÜRGENS (1907) das Material für seine zweite Arbeit geliefert hat, ist durch *Entamoeba tetragena* verursacht, nicht wie er annahm, durch *Entamoeba histolytica*. Ich konnte das daran feststellen, daß derselbe Patient später ins Rudolf-Virchow-Krankenhaus kam, wo ich ihn längere Zeit untersuchen konnte. Von diesem Falle habe ich auch positive Infektionsversuche an Katzen erhalten und den Beginn der Cystenbildung beobachtet. Weiterhin sind die Amöben, die DOFLEIN in seinem Lehrbuch nach Präparaten von ROESSLE als *Entamoeba histolityca* abgebildet hat, sind in Wirklichkeit *Entamoeba tetragena*, wie ich mich an den mir freundlichst zur Verfügung gestellten Präparaten überzeugen konnte. Dasselbe gilt wohl auch für die Fälle von NOC (1909) aus Saigon, wie WITHMORE (1911) schon gezeigt hat, sowie offenbar auch für die von RUGE. Ich kann daher gegenwärtig auf Grund eines sehr reichen Beobachtungsmaterials aus den verschiedensten Ländern [Afrika (und zwar Südwest-Afrika, Kongo, Kamerun, Togo, Ost-Afrika und Äyppten), Süd-Amerika (Brasilien), Zentral-Amerika, Vorder- und Hinterindien, Sumatra, Java, Philippinen, Formosa und China] mit großer Sicherheit aussagen, daß fast alle Fälle von Amöbendysenterie nicht durch *Entamoeba histolytica*, sondern durch *Entamoeba tetragena* hervorgerufen werden.

Die von Koidzumi (1909) unter dem Namen *Entamoeba nipponica* als eine weitere neue Art beschriebenen Amöben sind dagegen, wie sich aus dem Laufe der Darstellung ergeben wird, teils Degenerationsformen der *Entamoeba tetragena* oder *coli*, teils degenerierte amöbenähnliche Körperzellen, wie sie bereits v. Drygalski und Jürgens beschrieben haben.

Mit Freuden ergreife ich die Gelegenheit, Herrn Withmore, der mir seine gesamten *Tetragena*-Präparate zur Verfügung stellte, hierfür sowie für seine sonstige eifrige Mitarbeit auch an dieser Stelle meinen herzlichen Dank auszusprechen.

Material.

Das Material zu meinen Untersuchungen war von verschiedener Herkunft. Am wichtigsten war für mich das Material der Fälle aus dem Militärlazaret, das schon meiner vorläufigen Mitteilung zugrunde lag. Die Erkrankten waren Soldaten, die in Deutsch-Südwestafrika sich die Amöbenruhr zugezogen hatten. Sehr wertvoll war es, daß ich von einzelnen dieser Patienten täglich, von einem sogar ca. 2 Monate lang frische Stuhlproben erhielt, so daß ich die Amöben ein und desselben Falles lange Zeit hindurch verfolgen konnte. Das ist aber, wie wir bei der Schilderung der Morphologie und Entwicklung sehen werden, von großer Wichtigkeit, da die Amöben in ihrer Morphologie an manchen Tagen sich verschieden verhalten. Dadurch sind gerade eine Reihe von Irrtümern in der Literatur zu erklären. Ein weiterer frischer Fall stand mir später aus dem Rudolf Virchow-Krankenhause zur Verfügung. Es war dies derselbe Patient, der auch Jürgens das Material zu seiner zweiten Arbeit geliefert hatte. Ferner untersuchte ich in Rio de Janeiro zwei frische Fälle.

Von gewissem Interesse war ein Fall, der während meiner Abwesenheit in Brasilien in meinem Laboratorium von Herrn Dr. Jollos als *E. tetragena* diagnostiziert wurde. Der betreffende Patient, ein Schneider von Beruf, hatte sich nämlich die Amöbenruhr hier in Berlin zugezogen. Bei näherer Erkundigung stellte es sich heraus, daß er Hosen der aus Südwestafrika zurückgekehrten Soldaten ausgebessert hatte. Vermutlich hat er sich durch daran haftende Cysten infiziert.

Von allen übrigen Fällen standen mir nur fixierte Präparate zur Verfügung, vor allem die Präparate von Schaudinn und von Herrn Stabsarzt Dr. Viereck. Weitere Präparate verdanke ich Herrn Prof. Schilling von einem Fall vom Kongo, Herrn Dr. Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro), Herrn Prof. Kartulis (Ägypten), Herrn Prof. Doflein (Formosa) und Herrn Withmore (Manila). Allen diesen Herren sei auch an dieser Stelle mein bester Dank ausgesprochen.

Von den meisten frischen Fällen habe ich Infektionsversuche an Katzen vorgenommen, die in der Regel positiv ausfielen. Ich kann hierbei die Angaben von Viereck vollkommen bestätigen. Eine Weiterimpfung von Katze zu Katze brach nach 1 höchstens 2 Passagen ab. Im Katzendarm sind auch die Amöben, wie wir noch sehen werden, meist verändert.

Die Untersuchungsmethoden sind die gleichen wie in dem ersten Teil dieser Untersuchungen angegeben; außerdem wurden noch eine Anzahl von Reaktionen auf Glykogen und metachromatische Körper angewandt.

Morphologie und Entwicklung von *Entamoeba tetragena.*

1. Vegetative Formen.

Grösse. Die Größe der *Entamoeba tetragena* variiert innerhalb weiter Grenzen. In frischen Fällen, bei denen nur vegetative Formen vorhanden sind, findet man meist große Individuen von ca. 25—40 μ. Vor der Cystenbildung werden die Formen in der Regel bedeutend kleiner und gehen meist unter 20 μ herunter. Das gleiche findet man häufig bei künstlichen Infektionen von Katzen. Die kleinsten Individuen, die von mir beobachtet wurden, waren 5—10 μ. Da die Größe auch bei den beiden anderen menschlichen Darmamöben stark wechselt, so ist es nicht möglich, Größenunterschiede bei der Unterscheidung der Arten mit heranzuziehen und ich muß daher meine im ersten Teil dieser Untersuchungen bei der *Entamoeba histolytica* gemachten Angaben hierüber in diesem Sinne modifizieren.

Plasma und Bewegung. Das Aussehen unserer Amöbe stimmt ganz mit der Schilderung überein, die Jürgens (1902) und Schaudinn (1903) für *Entamoeba histolytica* so treffend gegeben haben. Da diesen Forschern, wie oben ausgeführt, offenbar ebenfalls in der

Hauptsache *Entamoeba tetragena* und nicht *E. histolytica* vorgelegen hat, ist das nicht weiter verwunderlich. Wie seit SCHAUDINN bekannt, ist der Hauptunterschied unserer Amöbe gegenüber der harmlosen *Entamoeba coli* der, daß sie auch in der Ruhe ein scharf gesondertes, in der Regel stark lichtbrechendes homogenes Ectoplasma aufweist. Das Entoplasma ist stets ganz mit Körnern, Vacuolen, Nahrungsresten durchsetzt und weniger lichtbrechend, wodurch es sich scharf gegen das Ectoplasma abgrenzt (s. Fig. 1 u. 2). Das Ectoplasma macht, wie schon JÜRGENS und SCHAUDINN hervorgehoben haben, einen glasischen Eindruck; es ist zähflüssig und erscheint homogen. Diesem verhältnismäßig festen Ectoplasma schreibt SCHAUDINN die Möglichkeit des Eindringens der Amöbe in das Darmepithel zu und führt hierauf ihre pathogene Wirkung zurück.

Wenn auch bei normalen vegetativen Individuen die deutliche Sonderung von Ecto- und Entoplasma als feststehender Charakter gelten kann, so kann man doch, offenbar hervorgerufen durch Veränderung des Mediums, an manchen Tagen auch eine große Anzahl gutlebender Amöben ohne diese Sonderung beobachten (Fig. 3). Wie schon in meiner vorläufigen Mitteilung erwähnt, glaube ich, daß dies auf bestimmte Ernährungsweise oder nach Verabreichung von Heilmitteln eintritt. Dieselbe Beobachtung kann man auch bei künstlisch infizierten Katzen an Amöben machen. Die Katzen können nicht als ein günstiger Wirt für unsere Parasiten angesprochen werden. Aus meinen Versuchen wie aus denen von WERNER geht hervor, daß spätestens nach 2—3 Passagen die Infektion abbricht. Das Studium der Amöben bei den Katzen zeigt sehr viele Degenerationsformen (siehe darüber S. 173) und gerade bei diesen tritt auch wiederum häufig der Verlust der Sonderung der beiden Plasmaschichten ein. Bei derartigen ectoplasmalosen Amöben habe ich jedoch gelegentlich deutliche Bewegung und zwar nach Art der Limaxamöben beobachtet (Fig. 3). Man kann sich daher auf die Sonderung in Ecto- und Entoplasma bei einer Amöbe für eine richtige Diagnose nicht allein verlassen, sondern muß auch noch die Kernverhältnisse, Fortpflanzung usw. berücksichtigen.

Die Bewegungen der vegetativen Individuen ist in der Regel äußerst charakteristisch. Sie geschieht nämlich durch sogenannte Bruchsackpseudopodien, wie sie RHUMBLER zuerst genauer für die *Amoeba verrucosa* beschrieben hatte. Dies vollzieht sich in der Weise, daß bei einer Amöbe, deren Entoplasma in reger Strömung begriffen ist, die Oberflächenhaut an einer kleinen Stelle plötzlich durchreißt und das darunterliegende Ectoplasma eventuell mit einem

Strome von Entoplasma bruchsackartig hervorquillt und sich über die Haptogenmembran der ursprünglichen Oberfläche ausbreitet. Man kann dann eine Zeitlang 2 Oberflächenmembranen übereinander sehen (siehe Fig. 1a bis c), da die ursprüngliche Haptogenschicht nur allmählich eingeschmolzen wird. Ja, in dem Falle, daß das Bruchsackpseudopodium auch Entoplasma mit sich führt, kann man Entoplasma über der alten Schicht Ectoplasma sehen. Das vorgestürtzte Entoplasma wird dann nachträglich in Ectoplasma umgewandelt und umgekehrt das darunterliegende Ectoplasma und Entoplasma. Wir finden also hier vollkommen den von Rhumbler geschilderten Ecto-Entoplasmaprozeß.

Diese Art Pseudopodienbildung kann gleichzeitig an mehreren Stellen stattfinden, oder aber es wird nur 1 Pseudopodium gebildet und der Vorgang wiederholt sich hierauf an einer benachbarten oder auch ganz entfernten Stelle der Oberfläche. Außer der Bewegung durch Bruchsackpseudopodien kommen auch andere amöboide Bewegungsformen vor, allerdings seltener. Am häufigsten ist noch dabei ein gleichmäßiges Dahinfließen der ganzen Amöbe mittels eines einzigen Pseudopodiums nach einer Richtung, wie es von den Limaxamöben bekannt ist. Diese letztere Bewegungsart findet man, wie oben erwähnt, gelegentlich auch bei ectoplasmalosen Amöben (Fig. 3).

Das Entoplasma enthält als Nahrung hauptsächlich rote Blutkörperchen, äußerst selten im Gegensatz zu *Entamoeba coli* Bakterien. In der Regel sind mehrere (2—6) Blutkörperchen und deren Reste in einer Amöbe (Fig. 1, 3, 4, 23 und 24), gelegentlich trifft man aber auch Amöben, deren Entoplasma geradezu vollgepfropft ist (Fig. 2). Niemals haben wir im Entoplasma der *Entamoeba tetragena* derartige große Vacuolen mit Bakterienanhäufungen beobachtet, wie sie bei der *Entamoeba coli* die Regel sind. Die Inhaltsbestandteile und die Vacuolen des Entoplasmas können daher sehr wohl bei der Artdiagnose mit herangezogen werde, wenn man sich auch nicht ausschließlich auf sie verlassen kann.

Im fixierten Präparat erscheint die Differenzierung im Ecto- und Entoplasma in der Regel verschwunden; nur nach Fixierung mit Osmiumgemischen ist sie meist erhalten (Fig. 5). Im gefärbten Präparat weist das Plasma meist eine sehr deutliche Wabenstruktur auf. Manchmal zeigt es auch größere Waben wie in Fig. 20 u. 21; doch ist dies kein ganz normaler Zustand.

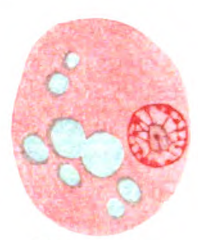
Kern. Falls die Amöben nicht sehr viel Blutkörperchen oder sonstige Nahrungsreste im Entoplasma enthalten, kann man schon

deutlich am lebenden Objekt den Kern erkennen. Er stellt sich als ein prall kugeliges Bläschen dar, das durch eine derbe, deutlich doppelt konturierte Kernmembran scharf von dem Protoplasma abgegrenzt ist (Fig. 1). Man kann dabei schon am lebenden Objekt mit aller Deutlichkeit die feineren Strukturen des Kernes erkennen. Bei den weitaus meisten Individuen findet sich ein kleines Caryosom in der Mitte, das von einer hellen strukturlosen Zone umgeben ist. Zwischen dieser Zone und der Kernmembran befindet sich ein wabiges Lininwerk, in dem chromatische Körner eingebettet sind (Fig. 1 u. 4). Im Leben weist das Caryosom und das Chromatin eine leicht rötliche Färbung auf.

Die helle Zone um das Caryosom ist, da dies schon im Leben erkennbar wahrgenommen werden kann, kein bei der Präparation entstandenes Kunstprodukt, sie ist vielmehr als der Ausdruck von cyklischen Veränderungen aufzufassen, die sich an dem Caryosom abspielen und über den ganzen Kern erstrecken. Derartige cyklische Veränderungen sind ja in der neueren Amöbenliteratur sehr häufig beschrieben worden, und gerade bei unserem Objekt habe ich seinerzeit zum ersten Mal auf sie aufmerksam gemacht (Hartmann und Prowazek 1907). Daß es sich hierbei nicht um das willkürliche Hineintragen einer Deutung in die bei Präparation erhaltenen einzelnen morphologischen Kernbilder handelt, geht daraus mit aller Sicherheit hervor, daß man bei einem günstigen, d. i. durchsichtigen Objekt diese Veränderungen auch im Leben beobachten kann, worauf ich schon in meiner vorläufigen Mitteilung hingewiesen habe. Ich konnte mehrmals beim Studium lebender Amöben verfolgen, wie die rötliche chromatische Substanz sich zunächst an der äußeren Grenze des Caryosomhofes ansammelte und dann weiterhin gegen die Peripherie zu in Form von kleinen Tröpfchen oder Fäden abfloß.

Was hier im Leben beobachtet werden konnte, das läßt sich bei Durchmusterung gefärbter Präparate in noch viel vollständigerer Weise zusammenstellen. Der oben beschriebene Kernbau kann als der charakteristische normaler vegetativer Formen von 20—40 μ Größe gelten. Man findet aber auch gelegentlich kleinere Formen (speziell bei Katzeninfektionen), die dann geradezu einen Caryosomkern ohne Außenkern aufweisen. Das kleinste von mir beobachtete derartige Tier ist in Fig. 7 abgebildet; in Fig. 7a sehen wir seinen Kern bei stärkerer Vergrößerung. Die ganze chromatische Masse ist in einem großen Caryosom angeordnet, in dessen Zentrum ein Korn wahrzunehmen ist, das nach seinem Verhalten bei der Kern-

teilung als Centriol zu deuten ist. Die Außenkernzone besteht aus einer einzigen Wabenreihe. Fig. 8 zeigt einen ähnlichen Kern von einer etwas größeren Amöbe. Die folgenden Figuren, Fig. 9—11, illustrieren nun klar, wie allseitig die peripheren chromatischen Körner des Caryosoms sich von demselben ablösen und in die Kernsaftzone übertreten. Gleichzeitig wächst aber im Innern das Centriol durch Verdichtung zu einem neuen Caryosom heran, und so entsteht schließlich durch diesen zentrifugalen cyklischen Abbau des ursprünglichen Caryosoms und durch das infolge zentripetalen Zuflusses bedingte Anwachsen des Centriols zu einem neuen Caryosom der typische Kern der erwachsenen Amöbe (Fig. 12). Auch hier kann man in dem neuen Caryosom meist ein zentrales Korn, ein Centriol, beobachten. Das Caryosom besteht in diesen Endstadien fast nur aus Plastinsubstanz, wie besonders deutlich an mit Carmin-Lichtgrün gefärbten Präparaten zutage tritt (Textfig. A). Das Centriol färbt sich dagegen in derselben Weise wie das Chromatin des Außenkerns rot.



Textfig. A.
Entamoeba tetragena.
Färbung: Best-Carmin und Lichtgrün. Blutkörperchen grün, Caryosom violett, Außenchromatin u. Centriol rot. ZEISS Ap. Obj. 2 mm, C. Oc. 8. Vergr. ca. 1300.

Aber auch dieser Kern verharrt nicht dauernd bei dieser Struktur, wie schon aus den oben erwähnten Lebenduntersuchungen hervorgeht. Vielmehr wiederholen sich auch an ihm wiederum dieselben cyklischen Vorgänge, wie die Fig. 13—16 zeigen, wobei man manchmal drei Caryosomgrenzen ineinandergeschachtelt findet (Fig. 16). Klarer als durch lange Beschreibung demonstriert ein Vergleich der Fig. 7—16 diese Verhältnisse.

Die hier geschilderten cyklischen Vorgänge am Kern resp. Caryosom sind nicht ohne Analogie, wie ich schon in meiner vorläufigen Mitteilung hervorgehoben habe. Denn prinzipiell dieselben Erscheinungen findet man in derselben Ausbildung bei den Centrosomen vieler Metazoen, wo sie besonders durch die Arbeiten von BOVERI, sowie VEJDOWSKI und MRÁZEK genau bekannt sind. Aber auch bei Protozoen sind sie außerordentlich häufig. Schon vor meiner vorläufigen Mitteilung über unsere Amöbe hat SIEDLECKI solche Vorgänge am Caryosom der Coccidie, *Caryotropha mesnili* in außerordentlich klarer Weise beschrieben. Seit v. PROWAZEK und ich auf diese Verhältnisse und ihre theoretische Bedeutung hingewiesen haben, sind sie auch bei einer ganzen Reihe anderer Amöben, Flagellaten usw. sowie vor allem auch bei dem sogenannten

Zentralkorn der Heliozoen von Keysselitz und Zülzer beschrieben worden. Auf die theoretische Bedeutung brauche ich hier nicht näher einzugehen, da ich meinen Standpunkt an anderen Stellen niedergelegt habe (siehe besonders 1911 a).

Hier sei nur noch kurz auf die praktische Bedeutung dieser cyklischen Caryosomvorgänge bei unserer Amöbe zum Zwecke einer Differentialdiagnose gegenüber anderen parasitären Amöben hingewiesen. Die cyklischen Veränderungen sind bei der *Entamoeba tetragena* morphologisch so außerordentlich deutlich ausgesprochen, wie es mir sonst von keiner anderen Amöbe bekannt ist. Man findet sie ja zwar auch bei den anderen Entamöbenarten, was ja bei der prinzipiellen Bedeutung, die wohl diesen Vorgängen zukommt, nicht anders zu erwarten ist. Sie sind aber bei diesen nicht so scharf ausgeprägt wie hier. Gegenüber Werner kann daher diese Ausbildung der cyklischen Veränderungen doch zur Differentialdiagnose gegenüber *Entamoeba histolytica* und *coli* herangezogen werden, und es lassen sich bei genügender Übung auf Grund dieser Kernverhältnisse die vegetativen Stadien der harmlosen und pathogenen Amöbe mit großer Sicherheit voneinander unterscheiden, wie wir das bei einer ganzen Reihe von Fällen in meinem Laboratorium praktisch ausprobiert haben (siehe darüber auch die Arbeit von Withmore 1911 b).

Fortpflanzung. Bei der *Entamoeba tetragena* konnten wir bisher nur Zweiteilungen beobachten. Die sich dabei abspielende Kernteilung konnte bei großen erwachsenen Individuen nicht genauer verfolgt werden. Hier sahen wir nur den Beginn derselben, der sich dadurch anzeigt, daß sich das im Caryosom befindliche Centriol hantelförmig teilt (Fig. 17). Außerdem kamen bei erwachsenen Formen von Teilungsstadien nur große Amöben mit zwei schon vollkommen getrennten Kernen zur Beobachtung. In einem dieser Tiere, das in Fig. 22 abgebildet ist, befand sich der eine Kern noch in Rekonstruktion, was sich daraus schließen ließ, daß das Caryosom noch keine einheitliche Kugel bildete, sondern aus einzelnen Brocken bestand, neben denen noch deutlich ein besonderes kleines Korn, vermutlich das Centriol, lag (Fig. 22 a).

Man könnte den Einwand erheben, die oben erwähnten geteilten Centriole (sowie das ungeteilte Centriol im ruhenden Kern) seien nur gewöhnliche Körnchen und hätten nichts mit Centriolen und deren Teilung zu tun. Daß dieser Einwand aber nicht berechtigt ist, geht daraus hervor, daß ich die Teilung der Centriole und des ganzen Kernes bis in ein ziemlich spätes Stadium der

Mitose mit aller Deutlichkeit bei einer kleinen Amöbe im Leben beobachten konnte. Bei den kleinen Amöben, die in der Regel vor der Encystierung auftreten, findet man überhaupt häufiger Kernteilungsstadien und zweikernige Amöben. Es hängt das offenbar mit raschen Teilungen zusammen, die vor der Encystierung vor sich gehen, worauf wir noch zurückkommen. Vielfach handelt es sich dabei um sogenannte Chromidialtiere. Hier interessiert uns zunächst nur die Kernteilung dieser Formen, die wir in den Fig. 18—20 und Textfigur B abgebildet sehen. Fig. 20 zeigt ein ähnliches Bild, wie es oben von einer großen vegetativen Form geschildert wurde, ein Caryosom mit 2 Centriolen. Desgleichen Fig. 26 von einem Chromidialtier. In Textfigur B1 sehen wir das Caryosom leicht in die Länge gestreckt eine achromatische tonnenförmige Spindel bilden, mit chromatischen Polkappen, in denen die Centriolen versteckt liegen. Dieses Stadium ist bei *E. coli* sehr häufig (siehe Teil III), während ich es hier nur einmal gefunden habe. In Textfig. B 2 liegt vermutlich ein Stadium vor, das eventuell diesem vorausgeht. Fig. 19 zeigt dann die ausgebildete Mitose. Die Zwischenstadien wurden leider nicht aufgefunden. Der in Mitose befindliche Kern ist stark in die Länge gestreckt und zeigt eine etwa bohnenförmige Gestalt. Diese Gestalt scheint für die Mitose der *Entamoeba tetragena* charakteristisch zu sein; denn sie wurde in mehreren derartigen Fällen beobachtet. Die Kernmembran ist deutlich erhalten, in dem Außenkern finden sich nur ganz geringe Spuren von Chromatin. Im Innern liegt eine fast cylindrische (wurstförmige), ebenfalls gebogene Spindel, an der sich in einer plastinartigen Grundmasse in Längsreihen angeordnete chromatische Körner finden. An den Polen dieser Spindel sieht man Centriole, die durch einen etwas leicht gebogenen Faden miteinander in Verbindung stehen. Diese Centrodesmose ist in manchen Fällen durch die darum sich befindlichen Reihen von Chromatinkörnern schwer sichtbar. Daß es sich aber hier nicht um eine Täuschung handelt, geht daraus hervor, daß ich die Centrodesmose in einem Falle am lebenden Objekt mit größerer Schärfe beobachten konnte, als dies je im gefärbten Präparat möglich war. In Fig. 18 ist dieses entsprechende Stadium nach dem Leben wiedergegeben. Man sieht den bohnenförmig in die Länge gezogenen Kern, darin die gleichfalls etwas gebogene Caryosomspindel, die einen schwach rötlichen





1 2

Textfig. B.
Zwei Kerne von *Entamoeba tetragena* (aus Darmschnitten) mit beginnender Teilung des Caryosoms.
Zeiss Obj. 2 mm, C. Oc. 12. Vergr. ca. 1950.

Ton aufwies, und an deren Pol 2 scharfe Körnchen, die mit einer deutlichen Fibrille, der Centrodesmose, verbunden sind. Bei der hier abgebildeten Amöbe konnte der ganze Vorgang der Kernteilung von dem Stadium an, wie es etwa in Fig. 20 wiedergegeben ist, bis hierher verfolgt werden, und auch mehrere andere Herren im Laboratorium, darunter Herr Prof. METCALF aus Oberlin konnte sich von dem Vorhandensein der Centriole und der Centrodesmose überzeugen. Leider ging auf diesem Stadium die kleine Amöbe infolge von Strömungen in dem Präparat aus dem Gesichtsfeld verloren und konnte nicht wieder aufgefunden werden. [1])

Eine mehrfache Kernteilung mit darauf folgender Schizogonie wie bei der *Entamoeba coli* (siehe Teil III dieser Untersuchungen) konnte bei *Entamoeba tetragena* niemals festgestellt werden. Dagegen wurden häufig Kernbilder beobachtet, wobei sich das Chromatin in Form von wenigen größeren Brocken an der Kernmembran angesammelt hatte, wie das SCHAUDINN für die Stadien einer multiplen Kernteilung angegeben hatte. Derartige Bilder haben jedoch nichts mit einer multiplen Kernteilung zu tun, sondern sind entweder einfach der Ausdruck von cyklischen Vorgängen (Fig. 6) oder aber, wie wir noch sehen werden, das Zeichen von Degeneration.

2. Degenerationsformen.

In den meisten Fällen von Amöbendysenterie findet man in den Entleerungen der Kranken die oben beschriebenen normalen vegetativen Individuen der *Entamoeba tetragena.* Doch kann man bei fortgesetzter längerer Untersuchung eines und desselben Falles die Beobachtung machen, daß gelegentlich auch eine größere oder geringere Zahl von Individuen mit abweichenden Protoplasma- und Kernverhältnissen auftritt. Auf die abweichenden Protoplasmaverhältnisse und Bewegungsvorgänge habe ich oben schon hingewiesen (S. 167). Bei ihnen sind in der Regel die Kerne nicht verändert, so daß auf Grund der Kernverhältnisse doch eine richtige Diagnose gestellt werden kann. Dagegen findet man in den inneren Organen, also in den Darmgeschwüren und in der Leber, ferner bei den Amöben aus den Stuhlentleerungen von künstlich infizierten Katzen, sowie bei Amöben aus menschlichem Stuhl vor der Encystierung, sehr häufig Amöben mit abweichenden Kernverhältnissen, die zu den ver-

[1]) Eine vergleichende Besprechung der Kernteilungen bei den Entamöben soll später bei anderer Gelegenheit gegeben werden.



schiedensten Irrtümern führen können und geführt haben. Daher ist es notwendig, auf diese Verhältnisse noch etwas näher einzugehen.

Bezüglich der Formen aus dem Katzendarm sei zunächst nochmal bemerkt, daß dieselben nicht als Normalindividuen angesprochen werden können. Wie nämlich aus den Infektionsversuchen von VIERECK, WERNER und mir hervorgeht, können die Katzen nicht als normale Wirte der *Entamoeba tetragena* gelten; denn nach 2, höchstens 3 Passagen gehen sie zugrunde. Die Amöben befinden sich hier nicht in ihrem normalen Medium und degenerieren. Alle cytologisch-entwicklungsgeschichtlichen Studien an Dysenterieamoeben bei künstlich infizierten Katzen sind daher mit größter Vorsicht aufzunehmen. Die Amöben weisen dabei sehr vielfach die Kerncharaktere auf, wie sie SCHAUDINN für die Kerne seiner *Entamoeba histolytica* beschrieben hat (s. Teil I). Es scheint mir ziemlich sicher, daß alle von WERNER als *Entamoeba histolytica* beschriebenen Amöben nur in dieser Weise zu deuten sind.

Ähnliche Kernbilder findet man auch häufig bei Amöben aus Schnitten durch Darmgeschwüre und Leberabscesse. So ist ein Teil der von mir im ersten Teile der Untersuchungen abgebildeten sogenannten *Histolytica*-Kerne aufzufassen. Denn da alle Dysenteriefälle von gleicher Herkunft, bei denen ich die Amöben gleichzeitig auch auf Ausstrichen aus Fäces untersuchen konnte, die typischen *Tetragena*-Charaktere aufwiesen, so scheint es mir ziemlich sicher, daß die sogenannten *Histolytica*-Charaktere in diesen Fällen nur dem Aufenthalt der Amöbe im Gewebe zuzuschreiben sind. Zudem konnten daneben auch im Gewebe typische *Tetragena*-Kerne beobachtet werden. Da ich aber bisher nur wenige menschliche Dysenteriedärme auf Schnitten untersuchen konnte, und auch von Leberabsceßamöben mir nur von zwei Fällen Präparate zur Verfügung standen, so ist ein endgültiges Urteil über diese Formen zunächst noch nicht möglich und kann erst auf Grund eines reichlichen Vergleichsmaterials gegeben werden.

Die meisten Degenerationsformen fand ich außer bei Katzen bei d e n Amöben aus menschlichem Stuhl, die kurz vor der Encystierung standen. Diese Formen sind in der Regel kleiner als die normalen. Es kommt dies offenbar daher, daß sich die Amöben auf diesem Stadium sehr rasch teilen. Damit stimmt gut überein, daß ich gerade in solchen Fällen die meisten Teilungsstadien gefunden habe. Gleichzeitig setzen bei diesen Formen vielfach Chromidienbildungen ein, auf die wir später noch zu sprechen kommen.

Unter den vielen Degenerationsformen, die sich hier finden, kann

man zwei Haupttypen unterscheiden. Bei dem einen bläht sich der Kern enorm auf und das Chromatin sammelt sich in Form von einzelnen größeren Brocken an der Kernmembran an, während das Caryosom fast vollkommen verschwindet (Textfig. C. u. D.). Derartige Kernbilder stimmen dann mit der Abbildung und der Beschreibung überein, die Koidzumi für seine sogenannte *Entamoeba nipponica* gegeben hat. In solchen Fällen, bei denen Koidzumi seine angeblich neue Amöbe bei Amöbendysenterie gefunden hat, handelt es sich offenbar nur um derartige Degenerationsformen der *Entamoeba tetragena.* Eine merkwürdige, hierher gehörige Degenerationsform ist auch in Fig. 14 wiedergegeben. Hier sind nur zwei Brocken in der Nähe der Kernmembran an entgegengesetzten Seiten, während der zentrale Raum des Kernes eine Struktur wie ein normaler Außenkern aufweist. Man könnte fast an eine Kernteilung denken.





Textfig. C. Textfig. D.
Zwei Degenerationsformen von *Entamoeba tetragena.* Zeiss Imm. 2 mm, Oc. 12. Vergr. ca. 1950.

Bei dem zweiten Typus von Degenerationsformen ist umgekehrt der Außenkern sowie die Kernmembran ganz oder fast ganz verschwunden und nur noch ein beträchtlich großes Caryosom vorhanden (Fig. 27 u. 28). Auch hierbei kann man, wenn auch selten, Übergangsformen zu den normalen Kernen finden. Diese Amöben mit scheinbar fast kompaktem Kern (Caryosom) hat Koidzumi bei seiner *Entamoeba nipponica* als die eigentlichen vegetativen Formen, die aus einer Schizogonie hervorgehen sollen, beschrieben. Auch hier hat er sich, soweit es sich um Dysenteriefälle handelte, durch derartige Degenerationsformen täuschen lassen.

Manchmal sieht man auch zwei derartige, scheinbar kompakte Kerne dicht beieinander liegen (Fig. 31), und ich habe früher auf Grund solcher Bilder geglaubt, daß es sich hier um eine autogame

Kerncopulation handele. Trotzdem ich inzwischen auch Bilder gefunden habe, die als Reduktionsteilungen gedeutet werden könnten, bin ich doch ganz von dieser Meinung abgekommen. Denn die Ähnlichkeit dieser Formen mit den so mannigfach auftretenden Degenerationsstadien ist zu auffallend, so daß es sich wohl nur um solche handeln kann. Dasselbe gilt auch von allen Stadien, die man als Reduktionsteilung deuten könnte. So ist in Fig. 29 eine Amöbe abgebildet, deren Kern in Teilung begriffen ist und die gleichzeitig eine Art Knospe abschnürt, wodurch ein Bild entsteht, das fast an die Richtungskörperbildung eines tierischen Eies erinnert. In Fig. 30 sehen wir eine Amöbe, die sich gerade encystiert hat; sie weist zwei Kerne auf, von denen der eine ebenfalls einen kleineren Reduktionskern abzuschnüren scheint. Ich habe hier absichtlich zwei derartig ganz extreme Bilder gegeben, die sich weder zeitlich noch nach der Art des Verlaufes zu einem gesetzmäßig verlaufenden Reduktionsvorgang kombinieren lassen. Es läßt sich so am einfachsten zeigen, daß derartige Bilder eben nichts mit einem gesetzmäßig verlaufenden Vorgang zu tun haben können, sondern tatsächlich nur Degenerationsformen sind. Es wäre ein leichtes gewesen, aus unseren Präparaten auch eine Serie von Bildern zu einer scheinbar einheitlich zusammenhängenden Serie von regelmäßigen Reduktionsteilungen und Kernverschmelzungen zusammenzustellen. Ein solches Verfahren wäre jedoch, wie sich nach dem oben Ausgeführten ergibt, vollkommen verfehlt. Aus dem gleichen Grunde sind daher auch alle die Angaben und Abbildungen über Reduktionsteilung in den Cysten von Entamöben, so speziell die von Elmassian bei seiner sogenannten *Entamoeba minuta*, die, wie wir noch sehen werden, identisch ist mit der harmlosen *Entamoeba coli*, kritisch aufzunehmen. Bei Beschreibung der *Entamoeba coli* (s. Teil III) wird auf diese Frage noch eingehend zurückzukommen sein.

3. Chromidien und Cystenbildung.

Die Cystenbildung ist ein Vorgang, der bei der *Entamoeba tetragena* außerordentlich selten eintritt. Selbst in Fällen, die ich wochen-, ja monatelang fast tagtäglich untersucht habe, wurde er nicht beobachtet. Leider habe ich selbst nur einmal bei einer Katzeninfektion Gelegenheit gehabt, am lebenden Objekt den Beginn dieses Vorganges zu studieren. Er kam jedoch hier nicht ganz zum Abschluß, da die Katze an der Infektion einging, bevor die eigentlichen Cysten gebildet waren. Ich war daher wesentlich auf das Studium

fixierter Präparate angewiesen. Da aber bei einigen dieser Fälle die Präparate von mehreren aufeinanderfolgenden Tagen stammten, und die Amöben sich dabei ziemlich gleichartig verhalten, so konnte doch dadurch der Mangel der Beobachtung des lebenden Vorgangs einigermaßen ausgeglichen werden. Im ganzen standen mir nur 5 Fälle von Cystenbildung zur Verfügung, von denen der eine aus Ägypten stammte, der andere aus Manila, bei den übrigen handelt es sich um die Fälle von Viereck. Außer diesen Fällen ist in der Literatur nur noch ein einziger Fall durch Huber bekannt geworden. Die Frage, weshalb die *Entamoeba tetragena* nur so außerordentlich selten Cysten bildet, kann vorderhand nicht beantwortet werden.

Wie schon oben angedeutet, wird die Cystenbildung eingeleitet durch ein Kleinerwerden der Amöben und durch gleichzeitiges Auftreten von Chromidien im Plasma. Davon werden fast sämtliche Individuen betroffen, so daß die normalen Amöben zurücktreten und nach einigen Tagen aus den Fäces vollkommen verschwinden. Gleichzeitig nimmt die Zahl der Amöben in den Entleerungen zu, so daß die Annahme nicht unwahrscheinlich ist, daß auch die Amöben aus den Geschwüren herauswandern und gleichfalls zur Encystierung schreiten, so daß mit der Encystierung gleichzeitig eine Art Naturheilung verbunden ist. Ob diese Annahme richtig ist, kann jedoch erst nach Untersuchungen frischer derartiger Fälle festgestellt werden.

Die für diese kleineren, zur Encystierung schreitenden Amöben charakteristischen Chromidien nehmen ihre erste Entstehung aus dem Kern, wie man an geeigneten Präparaten leicht beobachten kann (Fig. 23 u. 24). Es handelt sich somit um echte Chromidien im Sinne Richard Hertwig's, wie auch ihr färberisches und mikrochemisches Verhalten zeigt. Bei den verschiedensten angewandten Kernfarbstoffen (Karmin, Hämatoxylin, Safranin, Methylenblau, Methylgrün) nehmen sie die gleiche Farbe an wie das Chromatin des Kernes. Sie zeigen weder die Färbungen und Reaktionen der metachromatischen Körper (Volutin), noch die von Glykogen, was ja neuerdings für andere sogenannte Chromidien nachgewiesen worden ist. Doch stammen sie nicht nur aus dem Kern, sondern sie nehmen hauptsächlich im Plasma an Größe und Zahl enorm zu. Es handelt sich somit nicht nur um eine Entleerung von überschüssigem vegetativen Kernmaterial, sondern es findet auch direkt eine außerordentliche Vermehrung dieser Substanzen statt, so daß sie in der Regel den eigentlichen Kern um ein Vielfaches an Masse übertreffen (Fig. 19, 25, 26, 30). Die Form der Chromidien unterliegt wie ihre Zahl außerordentlichen Schwankungen. Anfangs sind es meist

runde oder langgestreckte, meist vielfach eckige Körner, manchmal auch größere Brocken und Klumpen (Fig. 24 u. 26). Sehr merkwürdig ist eine Erscheinungsform, bei der sie in langen, an den Enden zugespitzten spindelartigen Fäden sich darbieten, die sich wiederum aus einzelnen Körnern zusammensetzen (Fig. 30). Kurz vor oder während der Encystierung klumpen sie sich meist zu einem einzigen oder einigen wenigen (3—6) kompakten Körpern zusammen, die in der Regel eine lange ovale Form aufweisen (Fig. 32, 33, 36 etc.). Ich habe sie als Chromidialkörper bezeichnet. Auch sie färben sich in der gleichen Weise und geben die gleichen Reaktionen. Die Bedeutung dieser Chromidien und Chromidialkörper ist nicht vollkommen klar. Wahrscheinlich handelt es sich um einen Reservestoff; denn im weiteren Verlauf der Cystenbildung und der sich anschließenden Cystenruhe werden diese Körper in der Regel ganz oder fast ganz aufgebraucht (s. Fig. 42 u. 45).

Von den gewöhnlichen vegetativen Amöben unterscheiden sich die Chromidialtiere noch dadurch, daß bei ihnen wahrscheinlich im Zusammenhange mit der Chromidienbildung die sonst so deutliche Kernmembran undeutlicher wird, sich gewissermaßen verflüssigt. Der Kern kann nun seine normale Kugelgestalt einbüßen und wird vielfach bei den Plasmaströmungen stark verzerrt. Diese Stadien weisen somit eine völlige Übereinstimmung im Kernbau auf mit den von SCHAUDINN für die *Entamoeba histolytica* beschriebenen Charakteren. In der Tat hat auch SCHAUDINN, wie ich aus dem Studium seiner Präparate ersehen konnte (es handelte sich hier um Präparate, die er aus Ägypten erhalten hatte, also nicht selbst frisch untersuchen konnte), derartige Formen als *Entamoeba histolytica* angesprochen. Die gleichzeitig vorkommenden normalen Individuen hielt er dann für *Entamoeba coli*, was verständlich ist, da er ja, wie schon erwähnt, die Amöben nicht selbst lebend gesehen hat. So erklärt sich seine Angabe über eine Mischinfektion beider Amöben, was nach meinen bisherigen Erfahrungen nicht vorkommt. Ich selbst habe derartige Stadien früher auch für *Entamoeba histolytica* gehalten, so z. B. noch bei einem der Fälle von WITHMORE (1911 b), bis wir uns auch hier schließlich durch Auffinden einiger spärlichen Cysten überzeugen konnten, daß *Entamoeba tetragena* vorlag.

Die Chromidialtiere mit normalem typischen Kern schreiten nun weiterhin zur Encystierung. Vorher entledigt sich das Protoplasma aller Nahrungsreste usw., so daß außer dem einen Kern nur noch Chromidialkörper vorhanden sind. Die Amöbe kugelt sich dann ab und scheidet erst eine dünne Schleimschicht, darauf eine einfache,

dann doppelte feste Membran aus. Der Kern zeigt wieder deutlich seine Membran und die *Tetragena*-Charaktere. Auch hier kann man öfter Bilder einer cyklischen Umsetzung beobachten (Fig. 33 u. 35). Besonders in Fig. 34 sehen wir eine radiäre Anordnung chromatischer Körner vom Caryosom aus, während in Fig. 35 im Caryosom deutlich ein Centriol wahrgenommen werden kann.

Das Protoplasma füllt die Cyste in der Regel vollkommen aus. Eine zentrale Vacuole, wie sie bei *Entamoeba coli* so häufig zu finden ist, haben wir hier nur außerordentlich selten (2 oder 3mal) beobachtet (Fig. 35). Dieser Befund ist jedoch, wie wir bei der *Entamoeba coli* (Teil III) noch sehen werden, nicht unwichtig zur Beurteilung der Deutung der Vorgänge innerhalb der *Coli*-Cyste (Autogamie).

Die Kernteilung verläuft offenbar ganz ähnlich wie die der vegetativen Amöben. Auch hier finden wir eine intranucleäre Spindel mit Centriolen an den Polen und in Längsreihen angeordneten Chromatinfäden, die sich von Pol zu Pol erstrecken. Sehr deutlich sehen wir eine solche Spindel in Fig. 36 von einem Pol aus. Hier laufen alle diese Chromatinreihen in einem Korn, dem Centriol an dem oberen Pol zusammen. Bei tiefererEinstellung konnte man deutlich den ganzen Kern und die einzelnen Chromatinfäden der Spindel in die Tiefe verfolgen bis zu dem anderen Pol. Die Spindel war auch hier verbogen. Ein Unterschied gegenüber der vegetativen Kerntilung scheint darin zu bestehen, daß innerhalb der Cyste die Spindel außerordentlich lang ausgezogen wird, wie wir in Fig. 37 sehen. Hier ist auch die Kernmembran nicht mehr vorhanden. Ob das in Fig. 38 wiedergegebene Bild ein früheres Stadium der Mitose darstellt, mit Äquatorialplatte und Polkappen, vermag ich aus Mangel an Zwischenstadien nicht mit Sicherheit zu entscheiden. Sollte jedoch die Deutung richtig sein, wofür man auch die Übereinstimmung dieser Figur mit ähnlichen Bildern bei anderen Amöben ins Feld führen kann, dann wäre sie offenbar vor das Stadium der tonnenförmigen Spindel mit längsgereihten Chromatinfäden (vgl. Fig. 19 b und Fig. 36) einzureihen, etwa zwischen Textfig. A und Fig. 19.

Nach vollendeter Kernteilung findet man häufig in jedem der beiden Kerne die chromatischen Substanzen in zwei Partien von verschiedenem Aussehen nebeneinander getrennt liegen, eine kompakte Partie, die vielleicht dem Caryosom entspricht, und eine lockere, die wohl später zum Außenkern wird. Die beiden Kerne gehen dann in ein Ruhestadium über, bei dem das Caryosom resp. Centriol in der Regel nicht sehr deutlich ist, da es durch eine zentrale Anhäufung

von einzelnen Körnern von meist gleicher Größe verdeckt erscheint (Fig. 40). Schließlich teilen sich die beiden Kerne noch einmal (Fig. 41), so daß schließlich vierkernige Cysten entstehen. Die anfangs großen Chromidialkörper sind während dieser Zeit immer kleiner geworden und können schließlich vollkommen resorbiert werden (Fig. 42). Mit den vierkernigen Cysten ist der Abschluß der Entwicklung erreicht. Mehr als vier Kerne wurden niemals beobachtet. Durch die Vierzahl der Kerne, den beträchtlich großen Chromidialkörper, sowie die meist bedeutend geringere Größe lassen sich die Cysten der *Entamoeba tetragena* ziemlich leicht von denen der *Entamoeba coli* unterscheiden. Eine Differentialdiagnose ist in dem Falle, daß Cysten vorhanden sind, um so leichter, als sie sich dann meist in außerordentlich großer Zahl finden und oft nur Chromidialtiere, die bei *Entamoeba coli* fehlen, und Cysten vorhanden sind.

Wie aus dieser Darstellung hervorgeht, konnte ein Befruchtungsvorgang vor oder während der Cystenbildung nicht festgestellt werden. Meine Darstellung der Entwicklung der *Entamoeba tetragena* entspricht somit ganz der, die Dobell von der *Entamoeba ranarum* gegeben hat. Meine frühere Annahme einer Autogamie direkt vor der Encystierung war durch Bilder hervorgerufen worden, die offenbar nur als Degenerationsbilder zu deuten sind (s. oben S. 175). Wo die Befruchtung im Entwicklungskreise dieser Amöbe stattfindet, ist somit noch ungeklärt. Ich vermute, daß beim Platzen der Cysten im Darm eines frisch infizierten Tieres die aus derselben auskriechenden kleinen Amöben Gameten darstellen, die miteinander copulieren. Einen derartigen Befruchtungsvorgang hat ja neuerdings Mercier für *Entamoeba blattarum* nachgewiesen und Popoff hat ähnliches bei einer freilebenden Amöbe, der *Amoeba minuta*, beschrieben. Da, wie wir in der dritten Studie sehen werden, auch neuere Beobachtungen bei *Entamoeba coli* auf einen ähnlichen Befruchtungsakt hinweisen, so liegt diese Annahme außerordentlich nahe. Ob sie richtig ist, kann nur nach Infektionsversuchen mit Cysten per os an frisch getöteten Tieren nachgewiesen werden. Aus Mangel an lebendem Cystenmaterial konnte ich jedoch diese Untersuchungen bisher nicht ausführen.

(Literaturverzeichnis siehe bei Teil III.)

Tafelerklärung.

Die Figuren 1—3 u. 18 sind nach dem Leben, die übrigen nach in Sublimat-Alkohol oder HERMANN'scher Flüssigkeit fixierten und mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN gefärbten Präparaten mit dem ABBE'schen Zeichenapparat in Objekttischhöhe entworfen, und zwar Fig. 1—5, 22 u. 30 bei ZEISS Obj. 2 mm u. Comp. Oc. 8, Vergr. ca. 1300; Fig. 6, 7, 19a, 20, 21, 23—29 u. 31—45 bei ZEISS Obj. 2 mm u. Comp. Oc. 12, Vergr. ca. 1950; Fig. 7a—17, 19a u. 22a bei ZEISS Obj. 2 mm u. Comp. Oc. 18, Vergr. ca. 2800.

Tafel 15.

Fig. 1a—c. Eine lebende *Entamoeba tetragena* in drei aufeinanderfolgenden Bewegungsstadien.

Fig. 2. Große Amöbe mit vielen Erythrocyten nach dem Leben.

Fig. 3. Lebende Amöbe ohne Ectoplasma.

Fig. 4. Typische vegetative Form.

Fig. 5 u. 6. Formen aus Katzendarm.

Fig. 7—16. Kerne, die cyklischen Veränderungen am Caryosom zeigend.

Fig. 17—22. Teilungsstadien.

Fig. 23—26. Chromidialformen.

Fig. 27 u. 28. Degenerationsformen mit kleinem kompakten Kern.

Fig. 29. Degenerationsform, Reifeteilung vortäuschend.

Fig. 30. Große Degenerationsform mit fädigen Chromidien.

Tafel 16.

Fig. 31. Degenerationsform mit 2 Kernen, von denen einer einen Teil abschnürt, scheinbare Reduktionsteilung.

Fig. 32. Desgl. mit 2 verklumpten Kernen, die eine Copulation vortäuschen.

Fig. 33—35. Einkernige Cysten mit Chromidialkörpern.

Fig. 36. Einkernige Cyste mit Vacuole.

Fig. 37. Einkernige Cyste, Kern in Mitose, von einem Pol gesehen.

Fig. 38. Einkernige Cyte, Mitose.

Fig. 39. Einkernige Cyste, Mitose (?).

Fig. 40. Zweikernige Cyste direkt nach der Kernteilung mit 2 gesonderten Partien im Kern.

Fig. 41. Zweikernige Cyste mit ruhenden Kernen.

Fig. 42. Dreikernige Cyste, ein Kern in Teilung.

Fig 43—46. Vierkernige Cysten mit und ohne Chromidialkörper.

(Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.)

Untersuchungen über parasitische Amöben.

III. *Entamoeba coli* Lösch em. Schaudinn.

Von
Max Hartmann und **Eugen Withmore.**

(Hierzu Tafel 17 u. 18 und 2 Textfiguren.)

Vorbemerkung.

Diese dritte Studie ist der harmlosen menschlichen Darmamöbe gewidmet. Die bisherige Literatur über dieselbe ist in der Arbeit von Schaudinn (1903) sowie in der Bearbeitung von Werner (1911) für v. Prowazek's Handbuch der pathogenen Protozoen ausführlich referiert, so daß wir nicht mehr darauf einzugehen brauchen. Seit der Arbeit Schaudinn's sind zwar von verschiedenen Autoren (Craig [1908], Mac Carrisson, Werner [1911]) die vegetativen Amöben sowie die achtkernigen Cysten derselben beschrieben und abgebildet worden, doch fehlt eine eingehende Bestätigung und bildliche Darstellung der Vermehrungsvorgänge sowie der komplizierten, von Schaudinn als autogame Befruchtung aufgefaßten Verhältnisse, die sich innerhalb der Cyste abspielen.

Ich selbst habe schon seit Jahren diese Amöbe studiert, habe dabei aber einen Teil der Angaben von Schaudinn nicht bestätigen können. Doch hoffte ich bei reichlichem Material, das mir hier in Berlin nicht zur Verfügung stand, doch noch die betreffenden Stadien auffinden zu können.



Herr WITHMORE brachte nun eine große Anzahl von sehr guten Präparaten mit *Entamoeba coli* aus Manila mit, und das genauere Studium dieses reichen Materials ergab dieselben Resultate, wie ich sie schon teils gewonnen hatte, so daß wir nun unsere Befunde zusammen hier niederlegen wollen. HARTMANN.

Morphologie und Entwicklung von *Entamoeba coli* LÖSCH em. SCHAUDINN.

Grösse: Die *Entamoeba coli* schwankt ebenso wie die beiden anderen Darmamöben des Menschen innerhalb weiter Grenzen. Die durchschnittliche Größe beträgt 20—40 μ. CASAGRANDI und BARBAGALLO geben als Durchmesser der kleinsten Formen 10 μ, WERNER sogar 5 μ an. Ob es sich jedoch bei diesen ganz kleinen amöbenartigen Organismen tatsächlich um Individuen der *Entamoeba coli* handelt, scheint uns nicht ganz sicher. Es könnten auch ebensogut amöboide Stadien von *Trichomonas* vorliegen, für welchen Flagellaten ja SCHAUDINN und BENSEN Amöboidformen gefunden haben. Da WERNER von diesen kleinen Formen keine Kernbilder gibt (er hat sie nur nach dem Leben abgebildet), die allein eine eventuelle Unterscheidung von den amöboiden Flagellaten gestatten würden, so bleibt das Vorkommen derartig kleiner Formen vor der Hand unsicher. Die meisten der von uns beobachteten Individuen besaßen eine ziemlich erhebliche Größe; sichere Formen von *Entamoeba coli* unter 10 μ haben wir nie beobachtet.

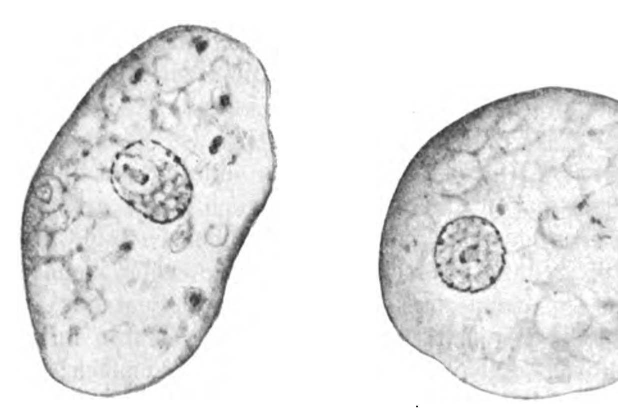
Protoplasma und Bewegung. Das Protoplasma und seine Differenzierung in Ecto- und Entoplasma nur während der Bewegung ist von SCHAUDINN und neuerdings von WERNER genau geschildert, so daß wir hier nur wenig hinzuzufügen haben. Bemerkt sei nur, daß wir bei unseren *Coli*-Amöben äußerst selten ein rotes Blutkörperchen in Nahrungsvacuolen beobachtet haben. Die Hauptnahrungselemente bilden vielmehr Coccen und andere Bakterien, die man im Gegensatz dazu bei Dysenterieamöben kaum findet. Wir sind daher doch der Meinung, daß die Art der in dem Plasma vorhandenen Nahrungsreste wohl zur Unterscheidung der harmlosen Amöbe von den pathogenen mit herangezogen werden kann. Auffallend sind auch die häufigen großen Vacuolen, die auch WERNER eingehend beschrieben hat; auch sie haben wir nie in der Weise bei *Entamoeba tetragena* beobachtet.

Kern. Der Kern der *Entamoeba coli* weist zwar im allgemeinen dieselben Charaktere auf, wie sie für die *Entamoeba tetragena* mit-

geteilt wurden (siehe II. Teil dieser Studien); doch lassen sich bei genügender Übung eine Reihe von charakteristischen Unterschieden ausfindig machen. Wie bei sämtlichen übrigen Entamöben handelt es sich um einen bläschenförmigen Kern mit verhältnismäßig kleinem Caryosom und stark ausgebildetem Außenkern. Auch hier finden sich die von einem von uns bei *Entamoeba tetragena* entdeckten cyklischen Vorgänge am Caryosom. Für den Kern der *Entamoeba coli* hat dieses Verhalten Werner neuerdings beschrieben und daraus den Schluß gezogen, daß diese cyklischen Vorgänge am Caryosom nicht als Unterscheidungsmerkmal der beiden Amöbenarten *Entamoeba coli* und *tetragena* benutzt werden können. Daß derartige cyklische Vorgänge auch am *Coli*-Kern vorkommen, hat der eine von uns (Hartmann 1909) auch schon erwähnt, doch sind dieselben nie so scharf ausgeprägt, so daß es bei einiger Übung wohl möglich ist, auf Grund dieses Merkmales *Coli*-Amöben von *Tetragena*-Amöben zu unterscheiden. Allerdings wird man dies nicht nur nach einer einzigen Amöbe entscheiden können, sondern nur bei Betrachtung einer größeren Anzahl Amöben desselben Falles.

Gegenüber dem *Tetragena*-Kern finden sich beim *Coli*-Kern noch einige weitere Eigentümlichkeiten, die ein Unterscheiden gestatten. Der eine von uns hat in älteren Präparaten von vegetativen Amöben schon beobachtet, daß das Caryosom der meisten Individuen (ca. 50 bis 70 Proz.) stets eine kleine spindelförmige Form aufwies mit den geteilten Centriolen resp. Caryosomen an den Polen und einer achromatischen Brücke (Fig. 2). Eine derartige Form ist auch in der 2. Auflage des Praktikums der Protozoologie von Hartmann abgebildet. Da ihm jedoch damals nur dieser eine Fall von *Entamoeba coli* mit reichlichen vegetativen Formen zur Verfügung stand, ist diese Eigentümlichkeit im Text nicht besonders hervorgehoben worden. Die Untersuchung des Manilamaterials ergab nun dasselbe Resultat, wenn auch in einem etwas geringeren Prozentsatz, nur bei ca. 20—30 Proz.). Wir müssen daher doch annehmen, daß hier ein prinzipieller Unterschied zwischen den *Coli*- und den *Tetragena*-Amöben vorliegt. Neben diesem spindelförmigen, in Zweiteilung begriffenen Caryosom fanden sich bei den Manilafällen auch öfter Caryosomspindeln mit ungleichen Polen (Textfig. A), sowie dreipolige (ebenfalls mit ungleichen Polen) von ähnlicher Natur (Textfig. B). Ob dieselben als Vorbereitung zu dreiteiligen Mitosen aufzufassen sind, wie sie v. Wasielewski und Hirschfeld bei *Limax*-Amöben gefunden haben, vermögen wir aus Mangel an späteren Stadien nicht zu entscheiden.

Fortpflanzung. Die Fortpflanzung der vegetativen Formen der *Entamoeba coli* geschieht wie bei anderen Entamöben vorwiegend durch Zweiteilung, wie das bereits Grassi, Casagrandi und Barbagallo sowie Schaudinn angegeben haben. Auch wir haben solche zweikernige Formen gefunden (Fig 3 u. 4). Wie die Kernteilung hierbei vor sich geht, können wir nicht genauer angeben, da wir trotz eifrigen Suchens nur die Anfangsstadien gefunden haben Fig. 2—4). Nach Schaudinn soll sich der Kern amitotisch teilen. Unsere Erfahrungen an der doch sehr nahe stehenden *Entamoeba tetragena* und *ranarum* sowie das von uns beobachtete Anfangsstadium (Fig. 4 oben) deuten doch darauf hin, daß es sich um eine Mitose oder Promitose handelt.



Textfig. A. Textfig. B.
Entamoeba coli mit heteropolen (A) und dreipoligen (B) Caryosomspindeln.

Neben der Zweiteilung haben bereits Casagrandi und Barbagallo eine multiple Teilung vermutet und Schaudinn hat diesen Vorgang genauer beschrieben. Nach letzterem soll dabei auch der Kern sich multipel teilen in ähnlicher Weise wie er es für die Foraminifere *Calcituba* beschrieben hat. Hierbei soll sich das Kernchromatin an der Innenseite der Kernmembran in eine Anzahl (in der Regel 8) getrennte Anhäufungen ansammeln, die dann beim Auseinanderfallen des Kernes zu Tochterkernen werden. Werner bildete zwei achtkernige vegetative Formen ab, die er als die Endstadien des von Schaudinn angegebenen Prozesses betrachtet.[1]) Auch von Prowazek hat bei seiner *Entamoeba williamsi*, die er als

[1]) Bei diesen beiden Formen von Werner erscheint es uns nicht sicher, daß es sich um Amöben handelt.

eine Varietät der *Coli* betrachtet, eine sechskernige vegetative Form abgebildet. Über die Kernvermehrung machen die beiden letzten Autoren keine Angaben.

Unsere eigenen Untersuchungen haben uns bezüglich der Kernvermehrung zu einer von Schaudinn abweichenden Anschauung geführt. Wir haben nämlich speziell bei den Manilafällen vegetative Individuen mit ganz verschiedener Zahl von Kernen beobachtet (2, 3, 4, 6) und die Art der Kerne bei diesen vielkernigen Amöben war eine derartige, wie sie auch sonst bei den ein- und zweikernigen Amöben getroffen wird, so daß wir unbedingt annehmen müssen, daß die Vielzahl der Kerne nur durch fortgesetzte Zweiteilung des gewöhnlichen Amöbenkerns zustandekommt. In dieser Auffassung werden wir auch durch Beobachtungen an den ein- und zweikernigen Amöben bestärkt. So befinden sich in Fig. 4 die Kerne, speziell der linke in einem Vorbereitungsstadium zur Teilung und in Fig. 3 zeigen beide Kerne die Caryosome in Zweiteilung. Wie andererseits schon in der *Tetragena*-Arbeit angegeben ist, findet man sehr häufig in den ruhenden Entamöbenkernen eine Ansammlung der chromatischen Substanz in einer Anzahl ziemlich gleich großer chromatischer Brocken an der Kernmenbran, wobei das zentrale Caryosom häufig fast ganz reduziert erscheint. Da man aber immer noch einen Caryosomrest, mindestens in Form eines Centriols in der Mitte findet und die Chromatinbrocken an der Membran nur durch zentrifugale cyklische Kernveränderungen zustandekommen; da sich weiterhin dieselben Brocken auch bei dem sich nur durch Zweiteilung vermehrenden *Tetragena*-Kern finden, so kann man wohl annehmen, daß auch bei der *Entamoeba coli* diese Brocken nichts mit einer multiplen Kernteilung zu tun haben. Die Ansammlung chromatischer Brocken an der Membran ist auch hier wohl nur als der Ausdruck cyklischer Veränderungen anzusprechen und steht nicht mit einer multiplen Kernvermehrung in Zusammenhang, wie Schaudinn das nach Analogie mit seinen Befunden bei *Calcituba* angegeben hatte.

Cystenbildung. Die Bildung der Cysten und die sich dabei abspielenden komplizierten Kernveränderungen sind von Schaudinn eingehend beschrieben worden. Von großem theoretischen Interesse war hierbei die Deutung, die er seinen Befunden gab, indem er diese Kernveränderungen als eine doppelte Selbstbefruchtung (Autogamie) auffaßte. Die Schaudinn'schen Angaben und Deutungen sind von Wenyon (1907) für die der *Entamoeba coli* sehr nahestehende *Entamoeba muris* mit geringen Abweichungen bestätigt worden. Bei der *Entamoeba*

coli sind die späteren Untersucher nicht auf diese komplizierten Verhältnisse eingegangen und haben sich meist mit Abbildungen verschiedenkerniger Cysten begnügt. ELMASSIAN hat für seine *Entamoeba minuta*, die, wie wir an anderer Stelle noch zeigen werden, identisch ist mit *Entamoeba coli*, eine etwas abweichende Autogamie beschrieben, während v. PROWAZEK für *Entamoeba williamsi* (gleichfalls identisch mit *Entamoeba coli*) die SCHAUDINN'schen Angaben mit geringen Abweichungen bestätigte.

Wir sind, wie aus der folgenden Darstellung sich ergibt, zu einer ganz abweichenden Auffassung der sich innerhalb der Cyste abspielenden Vorgänge gekommen, indem wir überhaupt keinen autogamen Befruchtungsvorgang annehmen. Zu Beginn der Encystierung entledigt sich das Protoplasma aller Inhaltsbestandteile und wird vollkommen klar und durchsichtig, wie das auch SCHAUDINN angegeben hat. Der Kern ist zunächst in der Einzahl in dem völlig durchsichtigen Plasma wahrzunehmen. Entweder teilt sich nun der Kern sofort, noch ehe eine weitere Veränderung vor sich gegangen ist oder aber es bildet sich noch vor der Kernteilung im Innern der Cyste eine große Vacuole, die auch bei anderen Amöbencysten öfters gefunden wird.

SCHAUDINN hatte angegeben, daß diese Vacuole erst aufträte nach der ersten Kernteilung, nachdem die beiden Tochterkerne auf die gegenüberliegenden Seiten gewandert wären (Fig. 11). Wie oben angegeben und wie auch WERNER und v. PROWAZEK erwähnten, kann sie jedoch auch schon vorher auftreten oder sie kann, wie Fig. 17 u. 18 zeigt, auch einmal vollkommen fehlen, ja es können statt einer gelegentlich auch 2 Vacuolen angetroffen werden. Über ihre Bedeutung sind wir vollkommen im Unklaren. PROWAZEK hatte bei der *Entamoeba williamsi* die Ansicht ausgesprochen, daß es sich um einen Reservestoffkörper handelt, wie er ja von ihm in den *Trichomonas*-Cysten nachgewiesen worden war. Eine Anzahl von Microreaktionen und Färbungen, die wir ausgeführt haben, um hierüber Klarheit zu gewinnen, führten zu keinem Resultat. Es zeigte sich keine Glykogenreaktion bei den verschiedensten Methoden; auch die Färbungen und Reaktionen auf metachromatische Körper fielen negativ aus. Nur manchmal konnte nach LUBARSCH'scher Färbung in ungenügend differenzierten Präparaten die Vacuole das Genzianviolett als dunkelbräunlichen Niederschlag aufweisen, niemals fand sich dagegen auch nur ein Anzeichen einer Violettfärbung. Wir müssen danach wohl annehmen, daß es sich um eine Flüssigkeitsvacuole handelt. Aufgefallen ist uns, daß diese Vacuolen haupt-

sächlich in den Cysten sich finden, bei denen eine starke Chromidienbildung stattgefunden hat (Fig. 10—15), während die klaren, von Chromidien freien Cysten sie nicht aufwiesen (Fig. 16—20). Es erscheint uns daher nicht ausgeschlossen, daß zwischen der Chromidienbildung und der zentralen Vacuole ein Zusammenhang besteht.

Von der ersten Kernteilung innerhalb der Cyste haben wir nur den Beginn beobachtet; er ist in Fig. 10 abgebildet. Der Kern hat sich enorm vergrößert und langgestreckt, die Chromatinkörner des Außenkernes sind zu Reihen angeordnet. Auch das Caryosom hat eine tonnenförmige Gestalt angenommen und man sieht durh seine Längsachse einen geknickten Faden (Centrodesmose) verlaufen.

Bei dieser Cyste hat erst eine leichte Chromidienbildung eingesetzt, sehr stark finden wir sie dagegen bei den zwei- und vierkernigen Stadien (Fig 11 u. 15). Besonders bei letzterem ist sie so enorm, daß die Kerngrenze ganz verwischt erscheint. Wie Fig. 11 zeigt, kann also auch die Chromidienbildung, die gleichfalls nach Schaudinn erst auf dem Zweikernstadium auftreten soll, schon auf dem einkernigen Stadium einsetzen.

Aus diesem einkernigen Stadium geht durch Mitose das zweikernige hervor (Fig. 12) und zwar sowohl bei Amöbencysten mit, als auch bei solchen ohne Vacuole in ganz gleicher Weise (Fig. 17). Die beiden Kerne teilen sich nun, und zwar in der Regel gleichzeitig, wie Fig. 13 u. 18 zeigen. In Fig. 12 u. 17, dem zweikernigen Stadium, befinden sich die beiden Kerne in Vorbereitung zur Teilung. Die Caryosome haben sich in einzelne Körner aufgelockert, die Centriole sind nicht oder kaum zu erkennen. Auch hier finden wir also den gleichen Teilungsprozeß bei zweikernigen Cysten mit und bei solchen ohne Vacuole. Wie Fig. 14 u. 19 zeigt, kann aber auch einmal der eine Kern sich früher teilen als der andere, so daß dreikernige Cysten entstehen. In Fig. 19 finden sich 2 kleine Ruhekerne, während der dritte Kern sich gerade im letzten Stadium der Mitose kurz vor der Durchtrennung befindet.

Nach dem vierkernigen Stadium verschwindet überall die Vacuole und mit ihr auch die Chromidien. Ihr Schicksal ist ein verschiedenes, wie schon Schaudinn eingehend geschildert hat. Falls die äußere Cystenhülle noch nicht gebildet ist, werden sie aus der Amöbe ausgestoßen, im anderen Falle verbleiben sie innerhalb derselben und werden dann allmählich resorbiert. Falls sehr viel Chromidien in der erhärteten Cyste zurückbleiben, so werden sie manchmal in derselben Weise wie bei der *Entamoeba tetragena* zu großen Klumpen zusammengebacken, und man kann sie dann noch bis

in der vollkommen ausgebildeten achtkernigen Cyste als sogenannte Chromidialbrocken beobachten (Fig. 22 u. 24). Fraglos handelt es sich auch hier um echte Chromidien, nicht um irgendwelche Reservestoffkörper plasmatischen Ursprungs, die sich chromatisch färben; denn auch hier haben wir bei den entsprechenden Färbungen und Microreaktionen, wie sie im II. Teil für die Cysten der *Entamoeba tetragena* angegeben sind, stets Chromatinfärbungen erhalten.

Von dem zwei- resp. vierkernigen Stadium aus vermehren sich weiterhin die Kerne zumeist in regelmäßiger Weise. So sehen wir in Fig. 19 zwei kleine Kerne, die gerade aus einer Teilung hervorgegangen sind, obenan ein sehr schönes spätes Spindelstadium, das umgeknickt erscheint und wohl kurz vor dem Durchreißen steht. Wie dieses Bild zeigt ist die Kernteilung bei *Entamoeba coli* offenbar bei der *E. tetragena* äußerst ähnlich (vgl. hierzu Teil II, Fig. 36 u. 37 Taf. 16). Fig. 20 zeigt 4 Kerne, offenbar gerade nach der Teilung, in Fig. 21 u. 22 sehen wir Cysten mit 4 ruhenden Kernen, in Fig. 23 eine solche mit 6 und in den Fig. 24—26 typische achtkernige Cysten, die nach Schaudinn das Endstadium dieser Entwicklung darstellen.

Auch in unseren Präparaten bilden die achtkernigen Cysten in der Regel den Schluß der Entwicklung. In *Coli*-Fällen aus Manila fanden wir doch auch einige größere Cysten, die eine größere Anzahl von Kernen enthielten, so sehen wir in Fig. 27 eine Cyste mit 13 Kernen, in Fig. 28 eine solche mit 15, in Fig. 29 eine mit 16 Kernen. Diese Bilder sprechen dafür, daß die 8 Kerne eine nochmalige Teilung unter Umständen durchführen können. In der vorläufigen Mitteilung von Withmore (1911a) wurde die Vermutung ausgesprochen, es handle sich eventuell bei diesen *Coli*-artigen Amöben mit mehr als 8 Kernen in der Cyste um eine neue Art. Schon Casagrandi und Barbagallo haben jedoch angegeben, daß bei der europäischen *Entamoeba coli* gelegentlich auch Cysten mit mehr als 8 Kernen vorkommen. Das gleiche hat Schaudinn beobachtet. Prowazek hat bei seiner *Entamoeba williamsi* ebenfalls zehnkernige Cysten gefunden und hält das für einen der Charaktere, die diese Amöbe von der *Entamoeba coli* trennt. Da auch bei der echten *Entamoeba coli* Cysten mit mehr als 8 Kernen vorkommen, so kann dieser Charakter nicht zur Begründung einer neuen Art herangezogen werden.

Die hier gegebene Darstellung der Kernvorgänge innerhalb der Cyste weicht erheblich von der Schaudinn's ab, der, wie oben angegeben, sich auch Wenyon für die *Entamoeba muris*, Prowazek für *Entamoeba williamsi* (wohl identisch mit *Entamoeba coli*) angeschlossen haben.

Unsere abweichende Auffassung bedarf daher noch einer eingehenden Diskussion und Begründung. Zunächst hatte Schaudinn angegeben, daß die beiden Kerne nach der ersten Kernteilung ihr Chromatin in Form von Chromidien bis auf einen kleinen Rest abgeben, und daß erst sekundär sich aus den Chromidien wiederum ein neuer Geschlechtskern aufbaue. Fraglos findet ja eine starke Chromidienbildung in diesem Stadium sehr häufig statt, immer aber bleibt doch bei diesem Prozeß ein vollkommen individualisierter Kern deutlich erhalten. Auch Wenyon und Prowazek, die sonst die Deutung Schaudinn's teilen, stimmen in diesem Punkte mit uns überein. Gegen die Schaudinn'sche Deutung spricht auch, daß bei einem Teil der Cysten auf diesem Stadium überhaupt keine Chromidienbildung eintritt, mithin auch keine Trennung von Geschlechtskernsubstanz und Stoffwechselkernsubstanz stattfinden kann.

Nach Rekonstruktion der Geschlechtskerne sollen sich dieselben nach Schaudinn zweimal hintereinander teilen, wodurch je zwei Reduktionskerne gebildet werden, die allmählich im Protoplasma resorbiert werden. Nach dieser Reduktionsteilung sollen sich dann die beiden Kerne wiederum gleichzeitig teilen und zwei parallel verlaufende Spindeln bilden, die um die Vacuole herumreichen. Der hinüberwandernde Pol von jedem Kern sei der männliche Tochterkern, der zurückbleibende der weibliche, entsprechend dem Wanderkern und stationären Kern der Infusorien. Je ein derartiger Wanderkern verschmelze dann mit einem stationären Kern, so daß eine autogame Doppelbefruchtung zustande käme nach Art der Infusorien. Gleichzeitig mit diesem Prozeß verschwinde auch die Vacuole, so daß nun ein zweikerniges Stadium ohne Vacuole vorliege, dem aber eine ganz andere Bedeutung zukäme, als dem zweikernigen Stadium mit Vacuole. Die weiteren Vorgänge sind dann in der Schaudinn'schen Darstellung dieselben wie bei uns.

Schon oben wurde darauf hingewiesen, daß das Vorkommen der zentralen Vacuole nicht an ein bestimmtes Entwicklungsstadium gebunden ist; denn einmal findet es sich schon bei einkernigen Cysten (Fig. 10); andererseits auch noch bei vierkernigen (Fig. 15), ja auch bei *Entamoeba tetragena* haben wir ja auch gelegentlich derartige Vacuolen im einkernigen Stadium gefunden (s. II. Teil Fig. 35). Dem Auftreten der Vacuole auf dem Zweikernstadium kann daher keine besondere Bedeutung zugeschrieben werden. Wohl könnte man unsere Fig. 13 als das Stadium mit den beiden Befruchtungsspindeln deuten, einfacher ist jedoch im Hinblick auf die Fig. 14 u. 15, wo wir drei- und vierkernige Cysten mit Vacuolen sehen, die Deutung dieser

Kernteilung als ganz gewöhnliche Vermehrungsmitosen. Auch Bilder, die für die von SCHAUDINN angegebenen Reduktionsteilungen mit Resorption der Reduktionskerne angesprochen werden könnten, haben wir öfter gesehen. Derartige der Auflösung verfallende Kerne findet man aber auch auf den verschiedensten Stadien der Cysten, wir haben sie ja auch bei *Entamoeba tetragena* beschrieben, bei der eine Reduktion und Autogamie in der Cyste ausgeschlossen ist (s. II. Teil). Hier haben wir in Fig. 16 ein dreikerniges Stadium abgebildet, bei dem nur der eine der beiden Kerne normale Struktur aufweist, die beiden andern an Reduktionkerne erinnern. Da hier aber eine Cyste ohne Vacuole vorliegt, kann es sich also nicht um die von SCHAUDINN angenommenen Reduktionskerne handeln. Dasselbe gilt von den Bildern, die ELMASSIAN und PROWAZEK als Reduktion angegeben haben. Ferner kann das von PROWAZEK in seiner Fig. 15 wiedergegebene Bild nicht als Beweis für eine Copulation angesehen werden, denn ebenso wie um einen aus Verschmelzung hervorgegangenen Kern, kann es sich entweder um einen einzigen, vor der Teilung stehenden Kern oder um zwei eng aneinanderliegende handeln, zumal da bei den Cysten mit großen zentralen Vacuolen die Kerne oft stark in dem engen Plasmaraum aneinandergepreßt werden.

Als Stütze für die SCHAUDINN'sche Auffassung von der Autogamie bleiben noch die WENYON'schen Angaben bei *Entamoeba muris*. Die Abbildungen, die dieser Forscher nach gefärbten Präparaten gegeben hat, und die die Reduktionsteilung sowie die Kerncopulation zeigen sollen, sind ebensowenig beweisend wie die bisher besprochenen Bilder sowie die früher von HARTMANN selbst als Autogamie gedeuteten Stadien bei *Entamoeba tetragena*. Nun gibt aber WENYON auch an, den ganzen Prozeß am Leben fortlaufend an einer Cyste beobachtet zu haben und belegt dieses durch eine Anzahl von zeitlich aufeinanderfolgenden Figuren von derselben Amöbe. Das einzige Bild, das aber in diesem Cyklus zugunsten eines Befruchtungsvorganges gedeutet werden könnte, zeigt nun zwar dasselbe, wie etwa unsere Fig. 20 sowie die Fig. 14 v. PROWAZEK's, nämlich vier direkt aus der Mitose hervorgegangene Kerne. Doch ist die Verschmelzung je zweier dieser Kerne durch das folgende Bild, das nur zwei Kerne wiedergibt, insofern nicht bewiesen, als bei der Schwierigkeit der Beobachtung sehr leicht einmal zwei von den Kernen eine Zeitlang unsichtbar sein können. Die eigentliche Verschmelzung zweier Kerne sowie die darauf folgende Teilung in vier ist jedoch nicht im Leben mit Sicherheit von WENYON beobachtet worden. Auf Grund unserer

Erfahrungen an *Entamoeba tetragena* sowie der hier wiedergegebenen Erwägungen kommen wir daher zu dem Schluß, daß ein autogamer Befruchtungsvorgang innerhalb der Cyste bisher nicht bewiesen ist.

Dagegen sprechen auch Beobachtungen, die PROWAZEK an seiner *Entamoeba williamsi* gemacht hat, die auf eine Heterogamie hinweisen. Er sagt dort: „einige Male sind sehr kleine Amöben in dichter Aneinanderlagerung beobachtet worden. In den Präparaten wurden dann zweikernige Stadien gesehen, deren Kerne sich verschieden verhielten, und da auch Andeutungen einer Reduktionskörperbildung nachgewiesen worden sind, scheint die Annahme einer Heterogamie im Entwicklungskreis dieser *Entamoeba* nicht allzu gewagt zu sein.“ Wenn auch diese Beobachtungen von PROWAZEK noch sehr lückenhaft sind, so gewinnen sie doch Bedeutung durch die Resultate, die MERCIER bei der *Entamoeba blattae* gewonnen hat. Bei dieser Amöbe fand nämlich MERCIER, daß nach Verfütterung der vielkernigen Cysten dieselben platzen und kleine Amöben herauskriechen, die als Gameten paarweise miteinander copulieren. Dieser Befruchtungsvorgang, der hier mit Sicherheit festgestellt ist, sowie die oben mitgeteilten Beobachtungen von PROWAZEK lassen es im hohen Grade wahrscheinlich erscheinen, daß auch bei den anderen Entamöben, also der *Entamoeba tetragena* und der *Entamoeba coli* sich der gleiche Befruchtungsakt findet. Da uns leider kein reiches lebendes Cystenmaterial zur Verfügung stand, und mit dem geringen Material wir bei Katzen keine Infektion erzeugen konnten, so haben wir diese Vermutung für unsere Amöbe noch nicht bestätigen können und es muß dies weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Literaturverzeichnis.

BENSEN, W. (1908): Die Darmprotozoen des Menschen. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 12.

BOVERI, TH. (1900): Zellenstudien. Heft 4: Über die Natur der Centrosomen. Jena.

CASAGRANDI u. BARBAGALLO (1891): Entamoeba hominis s. Entamoeba coli (LOESCH), in: Annali d'Igiene speriment Vol. 7 Fasc. 1.

CRAIG (1908): Studies upon the Amebae in the Intestine of Man. in: The Journ. of inf. diseases 1908.

DOBELL, C. C. (1909): Researches on the intestinal protozoa of frogs and toads. Quart. Journ. of Micr. Science Vol. 53.

DOFLEIN, F.: Lehrbuch der Protozoenkunde. 2. Aufl.



Elmassian, M. (1909): Sur une nouvelle espèce Amibienne chez l'homme, Entamoeba minuta n. sp. Centralbl. f. Bakt. etc., I. Abt., Orig. Bd. 52.

Hartmann, M. (1908): Eine neue Dysenterieamöbe, Entamoeba tetragena (Viereck). Syn. Entamoeba africana (Hartmann). Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 12 Beih. 5.

— (1909): Untersuchungen über parasitische Amöben. I. Entamoeba histolytica Schaudinn. Arch. f. Protistenk. Bd. 18.

— (1911): Die Dysenterie-Amöben. in: Prowazek, Handbuch d. pathog. Protozoen. I.

— (1911 a): Die Konstitution der Protistenkerne. Jena 1911.

Hartmann, M. u. S. v. Prowazek (1907): Blepharoplast, Caryosom und Centrosom. Arch. f. Protistenk. Bd. 10.

Huber (1906): Diskussion. Berl. klin. Wochenschr. Bd. 43 p. 1609.

— (1909): Untersuchungen über Amöbendysenterie. Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 67.

Jürgens (1902): Zur Kenntnis der Darmamöben und der Amöbenenteritis. Veröffentl. a. d. Geb. des Militärsanitätswesens H. 20.

— (1907): Die Amöbenenteritis und ihre Beziehungen zur Dysenterie. Zeitschr. f. exper. Path. u. Therapie Bd. 4.

Keysselitz, G. (1908): Studien über Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 11.

Koidzumi, M. (1909): On a new parasitic Amoeba, Entamoeba nipponica, found in the intestine of Japanese. Centralbl. f. Bakt. etc., I. Abt., Orig. Bd. 51.

Kuenen, W. A. (1909): Die pathologische Anatomie der Amöbiasis, verglichen mit anderen Formen von Dysenterie. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 13 Beih. 7.

Lesage, A. (1908): Note sur les Entamibes dans la dysenterie amibienne des pays chaudo. Bull. de la Soc. de Path. Exotique Tome I.

McCarrison, R. (1909): Amoebae in intestines in cases of goitre in Eilgit. Quart. Journ. Micr. Sc. Vol. 53.

Mercier, L. (1900): Contribution à l'étude de l'Amibe de la Blatte (Entamoeba blattae Bütschli). Arch. f. Protistenk. Bd. 20.

Noc, F. (1909): Sur la dysenteri amibienne en Cochinchine. Ann. Inst. Pasteur T. 23.

Popoff, M. (1911): Über den Entwicklungscyklus von Amoeba minuta n. sp. Anhang: Über die Teilung von Amoeba spec. Arch. f. Protistenk. Bd. 22.

Prowazek, S. v. (1911): Beitrag zur Entamoebafrage. Arch. f. Protistenk. Bd. 22.

Ruge, R. (1906): Amöbenruhr. in: Mense's Handbueh f. Tropenkrankh. Bd. 3.

Schaudinn, F. (1903): Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte Bd. 19.

Schuberg, A. (1893): Die parasitischen Amöben des menschlichen Darmes. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 13.

Siedlecki (1905): Über die Bedeutung des Caryosoms. Bull. Ac. Sc. Krakau 1905.

Tanaka, Y. (1910): Bemerkungen über die Pathogenität der Amoeba dysenteriae. Münch. med. Wochenschr. Bd. 57 2. Hälfte.

Vejdovský u. Mrázek (1903): Veränderungen im Cytoplasma während der Reifung und Befruchtung der Rynchelmiseier. Arch. mikr. Anat. Bd. 62.

Viereck, H. (1906): Über Amöbendysenterie. Med. Klin.

— (1907): Studien über die in den Tropen erworbene Dysenterie. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 11 Beih. 1.

Wasielewski, Th. v. u. Hirschfeld, L. (1909): Zur Technik der Amöbenuntersuchung. Hyg. Rundschau Bd. 19.

Wasielewski, Th. v. u. Hirschfeld, L. (1910): Untersuchungen über Kulturamöben. Abhandl. d. Heidelb. Akad. d. Wiss. Abh. 1.

Wenyon, C. M. (1907): Observations on the Protozoa in the Intestine of Mice. Arch. f. Protistenk. Suppl. I.

Werner, H. (1908): Studien über pathogene Amöben. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 12 Beih. 11.

— (1911): Entamoeba coli. in: Prowazek, Handb. d. pathog. Protozoen. I.

Withmore, E. R. (1911 a): Vorläufige Bemerkungen über Amöben aus Manila und Saigon. Centralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infektionskrankh. I. Abt. Bd. 58.

— (1911 b): Parasitäre und freilebende Amöben aus Manila und Saigon und ihre Beziehungen zur Dysenterie. Arch. f. Protistenk. Bd. 23.

Zuelzer, M. (1909): Bau und Entwicklung von Wagnerella borealis Mereschk. Arch. f. Protistenk. Bd. 17.

Tafelerklärung.

Tafel 17 u. 18.

Sämtliche Abbildungen beziehen sich auf *Entamoeba coli* und sind nach mit Sublimat-Alkohol fixierten und nach mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain gefärbten Präparaten bei Zeiss Apochr. Obj. 2 mm und Comp. Oc. 12 in Objekttischhöhe mit dem Abbe'schen Zeichenapparat entworfen. Vergr. ca. 1950.

Fig. 1. Große vegetative Form mit einfachem Caryosom.

Fig. 2. Desgl. mit Caryosom in Zweiteilung.

Fig. 3 u. 4. Zweikernige vegetative Amöben, in Fig. 4 links der obere Kern in Vorbereitung zur Teilung.

Fig. 5—7. Drei-, vier- und sechskernige vegetative Amöben, Stadien der Schizogonie.

Fig. 8 u. 9. Amöben vor der Encystierung

Fig. 10. Einkernige Cyste mit großem Kern zu Beginn der Mitose und Vacuole.

Fig. 11—15. Zwei-, drei- und vierkernige Cysten mit Vacuole, in Fig. 13 beide Kerne in Teilung.

Fig. 16. Cyste mit 2 degenerierenden Kernen, Reduktionsteilung vortäuschend.

Fig. 17. Zweikernige Cyste ohne Vacuole, Kerne in Vorbereitung zur Teilung.

Fig. 18. Desgl., aber Kerne in Mitose.

Fig. 19. Cyste mit 3 Kernen, von denen einer in Mitose, zwei nach der Teilung.

Fig. 20. Cyste mit 4 Kernen direkt nach der Teilung.

Fig. 21. Cyste mit 4 Kernen im Ruhestadium.

Fig. 22. Vierkernige Cyste mit großen fädigen Chromidialgebilden.

Fig. 23. Sechskernige Cyste.

Fig. 24—26. Achtkernige Cysten, Fig. 25 mit Chromidialkörpern (Fall aus Berlin).

Fig. 27. Cyste mit 13 Kernen.

Fig. 28. Cyste mit 15 Kernen.

Fig. 29. Cyste mit 16 Kernen.



(Aus dem histologischen Laboratorium der Königl. tierärztlichen Hochschule und aus dem Protozoenlaboratorium des Königl. Instituts für Infektionskrankheiten zu Berlin.)

Entamoeba aulastomi nov. spec.,
eine neue parasitische Amöbe aus dem Pferdeegel (*Aulastomum gulo* Moq.-Tand.).

Von
Wilhelm Nöller, stud. med. vet.

(Hierzu Tafel 19.)

Einleitung.

Im Sommer 1909 fand ich in Thüringen in Pferdeegeln eine noch unbeschriebene Art der Flagellatengattung *Trichomonas*. Bei der Nachprüfung dieses Befundes an Pferdeegeln aus der Umgebung Berlins traf ich neben jener *Trichomonas* und dem von Hesse aus dem Blutegel beschriebenen *Trypanoplasma vaginalis* sehr häufig eine parasitische Amöbe an, deren Entwicklungskreis ich, soweit ich ihn aufgedeckt habe, hier beschreiben will.

Material und Technik.

Von den am Havelufer zwischen Spandau und Wannsee gesammelten Pferdeegeln (*Aulastomum gulo* Moq.-Tand.) waren fast alle Exemplare mit der Entamöbe infiziert. Die Amöbe findet sich

im Enddarm ihres Wirtes. In Pferdeegeln, die lange gehungert haben und deren Enddarm infolgedessen leer ist, läßt sie sich oft gar nicht oder nur in wenigen Exemplaren nachweisen. Dagegen kommt sie im Enddarm gut genährter Egel fast immer in großer Anzahl vor. Zur Anfertigung von Präparaten habe ich entweder den Kot der Pferdeegel benutzt, der sich leicht auspressen läßt, indem man den Egel am vorderen Ende mit einer kräftigen Pinzette festhält und mit einer zweiten Pinzette, zwischen deren Schenkel man den Egel in der Mitte faßt, nach dem Hinterende hinstreicht; oder ich habe den Enddarm herauspräpariert, aufgeschnitten und so die Ausstriche hergestellt. Fixiert habe ich in heißem Sublimatalkohol nach Schaudinn. Dann wurden die Ausstriche in Jodalkohol ausgewaschen und mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain gefärbt.

Die vegetativen Formen.

Die Größe der vegetativen Amöben schwankt außerordentlich. Kleine, eben aus der Cyste ausgeschlüpfte Amöben messen nur 4—5 μ im Durchmesser. Große runde Formen erreichen einen Durchmesser von 35 μ. Langgestreckte Formen erreichen bei ihrer größten Streckung eine Länge von 60 μ bei einer durchschnittlichen Breite von 10 μ.

Im Leben ähnelt die Amöbe sehr der *Entamoeba coli* (Lösch emend. Schaudinn). Sie zeigt in der Ruhe, während der sie meist eine rundliche Form annimmt, keine Sonderung des Ectoplasmas vom Entoplasma. Bei der Bewegung bildet sie meist nur wenige, breitlappige Pseudopodien (häufig nur eins), die aus hyalinem, schwach lichtbrechendem Ectoplasma bestehen. Das Entoplasma ist fein gekörnt und zeigt eine ziemlich feinwabige Struktur. Der Kern ist im Leben stets deutlich sichtbar. Sein Außenchromatin erscheint als ein stärker lichtbrechender Ring.

Im gefärbten Präparate zeigt das Plasma seine feinwabige Struktur ziemlich gleichmäßig. Der Kern der Amöbe zeigt sehr große Ähnlichkeit mit dem der *Entamoeba tetragena* (Viereck). Er ist fast stets kugelförmig und zeigt eine deutliche Scheidung zwischen Außenkern und Caryosom. Der Außenkern stellt eine Kugel dar, an deren Oberfläche viele kleine Chromatinbröckchen angeordnet sind. Die Kernmembran ist infolge dieses Chromatinbelages nicht nachzuweisen. Das Caryosom zeigt eine feinkörnige Struktur. Seine Größe ist im Verhältnis zu der des Außenkernes nicht konstant. Oft beträgt sein Durchmesser über die Hälfte des Außenkerndurchmessers,

oft nicht einmal ein Viertel des Außenkerndurchmessers. Bei pathologisch veränderten Amöben ist vom Caryosom überhaupt nur noch das Centriol nachweisbar. Dieses liegt meist zentral im Caryosom, seltener in der Nähe der Peripherie. Nicht selten finden sich im Caryosom zwei Centriole in oder kurz nach der Teilung, wie es HARTMANN für *Entamoeba tetragena* nachgewiesen hat. Der Durchmesser des Kernes schwankt ebenso wie die Größe der Amöbe sehr stark. Er beträgt bei frisch aus der Cyste ausgeschlüpften Amöben 1,5 μ und erreicht bei den großen vegetativen Formen eine Größe von 10 μ. Obgleich ich beim wiederholten Durchmustern meiner Präparate über ein Dutzend zweikerniger Amöben fand, ist es mir bisher nicht geglückt, eine Kernteilung aufzufinden. Die zweikernigen Amöben zeigen zum Teil normales, feinwabiges Plasma und normale Kerne mit deutlichem Caryosom mit Centriol und mit viel Chromatin im Außenkern (Fig. 6). Die Kerne sind ziemlich weit auseinandergerückt. Zum Teil zeigen sie ein außerordentlich stark vacuoliges Plasma, das ganz von winzigen Chromidien erfüllt ist. Die Kerne liegen hier ganz nahe aneinander. Ihr Außenchromatin ist gänzlich geschwunden und vom Caryosom ist nur ein kräftig gefärbtes Centriol übrig geblieben (Fig. 9). Die Bedeutung dieser mehrkernigen Formengruppe (ich habe auch eine dreikernige gefunden) bleibt mir bisher unklar. Wahrscheinlich ist, daß der Chromidienreichtum des Plasmas mit dem Chromatinschwunde am Kern in Beziehung steht. Das grobvacuolige Plasma legt die Vermutung nahe, daß es sich um Degenerationsformen handelt. Merkwürdig bliebe dann freilich, daß die Degeneration immer kurz nach der Kernteilung einsetzt. Andererseits wäre es denkbar, daß diese Formen vielleicht bei der Bildung der größeren Chromidien, wie sie uns in den Cysten entgegentreten, eine Rolle spielen.

Die Cysten.

Die Entstehung der Cysten aus den vegetativen Amöben habe ich im Leben bisher nicht verfolgen können. Doch kann ich bei der großen Übereinstimmung mit der *Entamoeba tetragena* wohl annehmen, daß die Cystenbildung wie bei dieser Art von kleinen vegetativen Formen ausgeht. Diese Annahme gewinnt an Wahrscheinlichkeit durch das Auffinden von kompakten Chromidialkörpern, wie sie in den Cysten vorkommen, innerhalb kleiner Amöben (Fig. 10). Diese Amöben haben einen Durchmesser von 7,5—11 μ und einen Kern von 3—4 μ Durchmesser. Das Außenchromatin des Kernes macht einen kompakteren Eindruck als das der großen vegetativen

Formen. Die Chromatinkörner sind nicht voneinander abgegrenzt. Freilich ist es unmöglich, in den Kanadabalsampräparaten zu erkennen, welche Amöben schon eine Cystenhülle besitzen. Die Kontur der Cystenmembran verschwindet im Kanadabalsam meist ganz. Sie ist nur zu erkennen, wenn Fremdkörper die Stelle bezeichnen, an der die Cystenhülle aufhört. Im Wasser ist die Hülle sehr deutlich zu erkennen. Infolge dieser Schwierigkeit darf man nur diejenigen kleinen Amöben mit Chromidialkörpern als wahrscheinlich zur Encystierung bestimmt ansprechen, die sich schon abgerundet haben (Fig. 12—14). Diejenigen Cysten, deren Cystennatur nicht so in Zweifel gezogen werden kann, haben einen Durchmesser von 6,5 bis 11 μ. Sie sind von einer ca. 0,5 μ dicken, stark lichtbrechenden Hülle umgeben. Das Protoplasma ist ebenso feinwabig gebaut wie das der Amöbe. Die Kerne der Cysten zeigen einen ziemlich kompakten Ring von Außenchromatin und ein kompaktes, kleines Caryosom, in dem keine weiteren Einzelheiten wahrzunehmen sind. Ihr Durchmesser beträgt nur 1,5—2,5 μ. Neben den Kernen finden sich fast regelmäßig kompakte Chromidialkörper, die viel intensiver gefärbt sind als das Kernchromatin. Auch findet man häufig Cysten, die eine große Vacuole besitzen.

Die Anzahl der Kerne in den Cysten beträgt 1—8. Die vierkernigen Cysten kommen so häufig vor, daß ich sie für die normal gereiften, fertigen Cysten halte. Nur einmal (Fig. 21) habe ich eine achtkernige Cyste gefunden. Doch nehme ich an, daß diese Kernzahl nur ausnahmsweise vorkommt, wie ja Casagrandi u. Barbagallo sowie Hartmann u. Withmore bei *Entamoeba coli* zehn- und sechzehnkernige Cysten gefunden haben.

Biologisches.

Beim Durchmustern eines meiner Präparate fiel Herrn Prof. Dr. Hartmann das Vorkommen Charcot-Leyden'scher Kristalle auf. Er sprach die Vermutung aus, daß es sich möglicherweise um eine weniger harmlose Amöbe handele. Da ich das Vorkommen der Kristalle in noch mehreren meiner Präparate feststellen konnte, habe ich den Enddarm eines stark infizierten Pferdeegels in Paraffin eingebettet und geschnitten. Innerhalb des Gewebes habe ich die Amöbe nicht nachweisen können. Auch zeigte das Epithel keine nennenswerten Veränderungen. Im Protoplasma der Amöbe habe ich bisher nur Bakterien und einmal eine Cyste ihrer eigenen Art gefunden.

Artbestimmung.

Von allen Entamöben gleichen der von mir beschriebenen Art am meisten *Entamoeba coli* (Lösch emend. Schaudinn) und *Entamoeba tetragena* (Viereck). Von *Entamoeba coli* unterscheidet sich meine Art durch das große Caryosom und durch die in der Regel nur vierkernigen kleinen Cysten. Von *Entamoeba tetragena* unterscheidet sie sich scharf durch den Mangel einer Sonderung des Ectoplasmas vom Entoplasma in der Ruhe und durch die verhältnismäßig geringe Lichtbrechung des Ectoplasmas. Darum ist ihre Aufstellung als neue Art begründet, und ich möchte sie nach ihrem Wirtstiere *Entamoeba aulastomi* nennen.

Für ihre freundliche Unterstützung bei meiner Arbeit bin ich zwei Herren zum Danke verpflichtet. Herrn Geheimrat Prof. Dr. Schmaltz danke ich für den Arbeitsplatz, den ich in seinem Laboratorium erhielt, und Herrn Prof. Dr. Hartmann für die Anregung zur Bearbeitung meiner Amöbe und für die Unterstützung mit Ratschlägen bei vielen wissenschaftlichen und technischen Fragen.

Literaturverzeichnis.

Hartmann, M. (1908): Eine neue Dysenterieamöbe, Entamoeba tetragena. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Beiheft 5.

— (1910): Praktikum der Protozoologie. 2. Aufl. Jena.

— (1911): Die Dysenterieamöben. in: Prowazek's Handbuch der pathogenen Protozoen.

Schaudinn, F. (1903): Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte Bd. 19.

Tafelerklärung.

Tafel 19.

Sämtliche Figuren sind mit Hilfe des ABBE'schen Zeichenapparates in Objekttischhöhe entworfen, und zwar Fig. 1—3 mit ZEISS Apochr. Imm. 2 mm und Comp. Oc. 6 (Vergr. ca. 975), Fig. 4—22 mit Apochr. Imm. 2 mm und Comp. Oc. 12 (Vergr. ca. 1950). Fig. 1—3 sind nach dem lebenden Objekt entworfen, Fig. 4—22 nach mit HEIDENHAIN's Hämatoxylin gefärbten Präparaten.

Fig. 1. Ruhende Amöbe.
Fig. 2 u. 3. Amöben in Bewegung.
Fig. 4 u. 5. Große vegetative Amöben mit typischem Kernbau.
Fig. 6. Große vegetative Amöbe mit zwei Kernen. Normales Exemplar.
Fig. 7. Vegetative Form mit zwei Centriolen im Caryosom.
Fig. 8. Langgestreckte vegetative Amöbe.
Fig. 9. Amöbe mit zwei Kernen, vacuoligem Protoplasma und vielen staubförmigen Chromidien. Degenerationsform?
Fig. 10 u. 11. Kleine Amöben, aus denen sich wahrscheinlich die Cysten bilden.
Fig. 12—14. Einkernige Cysten.
Fig. 15. Zweikernige Cyste mit Chromidialkörpern.
Fig. 16. Dreikernige Cyste mit Chromidialkörpern.
Fig. 17 u. 18. Vierkernige Cysten mit Chromidialkörpern.
Fig. 19. Vierkernige Cyste mit Vacuole.
Fig. 20. Vierkernige Cyste ohne Chromidialkörper.
Fig. 21. Achtkernige Cyste.
Fig. 22. Kleine aus der Cyste ausgeschlüpfte Amöbe.

(Aus dem histologischen Laboratorium der Königl. tierärztlichen Hochschule und aus dem Protozoenlaboratorium des Königl. Instituts für Infektionskrankheiten zu Berlin.)

Über eine neue Schizogonie von *Lankesterella minima* Chaussat. (= *Lankesterella ranarum* Lank.).

Von

Wilhelm Nöller, stud. med. vet.

(Hierzu Tafel 20.)

Um Untersuchungen über die Vermehrung und Übertragung von *Lankesterella minima* Chaussat anzustellen, fing ich mir im Sommer 1911 eine größere Anzahl erwachsener Wasserfrösche am Müggelsee. Als ein sehr stark mit *Lankesterella* infizierter Frosch gestorben war, versuchte ich, *Lankesterella*-freie Wasserfrösche, deren Blut ich wegen ihrer Infektion mit *Trypanosoma rotatorium* sechs Wochen lang kontrolliert hatte, künstlich mit *Lankesterella* zu infizieren. An einige Frösche verfütterte ich Eingeweide des gestorbenen Frosches, einigen anderen spritzte ich das stark *Lankesterella*-haltige, defibrinierte Blut des eingegangenen Wasserfrosches intramuskulär ein und verfütterte an sie noch obendrein dessen Leber und Darm. Zehn Tage später fand ich im Blute und in den Eingeweiden eines Frosches der letzten Gruppe eine Art der Schizogonie von *Lankesterella*, die von der von Labbé, Laveran, Hintze und França beschriebenen „*Dactylosoma*“-Schizogonie gänzlich abweicht.

Leider war der Infektionsversuch nicht eindeutig. Denn es ist möglich, daß 1. die Infektion durch das intramuskulär injizierte Blut hervorgerufen worden ist, 2. daß die *Lankesterella* den Frosch vom Darmkanale aus infiziert hat, 3. daß ein Blutegel (*Hirudo medicinalis*), den ich mehrere Wochen vorher an einem mit *Lankesterella* infizierten Frosche und dann kurze Zeit vor dem Infektionsversuche an dem betreffenden Frosche Blut habe saugen lassen, die *Lankesterella* übertragen hat. Dann ist es noch möglich, wenn auch nicht wahrscheinlich, daß ein Lungentrematode der Gattung *Monostomum* die *Lankesterella* übertragen hat. Es fand sich nämlich in einer Lunge des betreffenden Wasserfrosches ein solcher Trematode vor. Auch habe ich bei einem mit *Lankesterella* infizierten Wasserfrosche im Darmkanale eines in der Lunge blutsaugenden Trematoden (*Monostomum spec.*, wohl *ellipticum* Rud.) viele bewegliche *Lankesterella*-Exemplare gefunden. Die experimentelle Nachprüfung des Infektionsversuches ist bis jetzt erfolglos geblieben. Ich habe ohne Erfolg vier *Lankesterella*-freien Wasserfröschen Blut eines (allerdings nicht stark) infizierten Wasserfrosches und fünf anderen Fröschen eine Aufschwemmung der zerzupften Milz jenes Frosches intramuskulär eingespritzt. Ebenso erfolglos sind bisher meine Versuche gewesen, die *Lankesterella* durch *Hirudo medicinalis* zu übertragen. Von *Piscicola geometra* standen mir zu wenig Exemplare zur Verfügung, und von 14 Exemplaren der *Hemiclepsis marginata* habe ich bisher keins zum Blutsaugen bewegen können, weil sie sich wohl in der Freiheit schon vollgesogen hatten. Einige (nur wenige) Frösche, denen ich nur Eingeweide eines infizierten Frosches gefüttert hatte, zeigten zehn Tage nach der Fütterung keine Infektion. Doch sind alle diese mißglückten Versuche bisher nicht beweisend, da mir nur eine beschränkte Anzahl von nicht infizierten Fröschen (ca. 30) zur Verfügung gestanden haben.

Im Blute des künstlich infizierten Wasserfrosches fanden sich sehr spärlich bohnenförmige, ungefähr 28 μ lange und 10—12 μ breite Schizonten innerhalb eines Leucocyten oder einer Endothelzelle in einer dünnen, aber ziemlich festen membranartigen Hülle. Das Protoplasma des Leucocyten oder der Endothelzelle umgibt als dünne Schicht den bohnenförmigen Parasiten und zeigt an einer verdickten Stelle den Kern. Das Protoplasma des Parasiten ist grob wabig gebaut. Außerdem fanden sich im Blute meist frei in einer ovalen bis bohnenförmigen, doppelt konturierten, ungefähr 22 μ langen und 10—12 μ breiten Hülle fortgeschrittenere Schizonten, die an den beiden Polen schon fingerförmige Merozoiten, die typischen

Lankesterellen zeigten. In der Mitte des Schizonten blieb meist ein Restkörper übrig. Bei der Sektion des Frosches traf ich die Schizonten am häufigsten in der Milz. An zweiter Stelle folgte die Leber; dann kamen Pankreas, Lunge und Knochenmark. In allen diesen Organen fanden sich die Schizonten meist in Endothelzellen und Leucocyten, seltener frei in den Kapillaren vor. In Milz und Lunge traf ich schon ziemlich viele freie *Lankesterella*-Würmchen an.

In den in heißem Sublimatalkohol mit Zusatz von Essigsäure fixierten Ausstrichpräparaten färben sich die Schizonten infolge ihrer festen Hüllmembran mit Heidenhain's Hämatoxylin nur schwer. Besser dringen Weigert's Hämatoxylin, Hämalaun und vor allem Delafield's Hämatoxylin und Eosin als Plasmafarbe durch die Membran des Schizonten hindurch. In Schnitten von 5—10 μ Dicke färben alle angeführten Farben den Parasiten leicht.

Die bohnenförmigen Schizonten zeigen eine grobwabige Protoplasmastruktur und je nach ihrem Alter einen bis zweiunddreißig Kerne. Diese sind bei mehrkernigen Stadien regellos über das Protoplasma verteilt. Weiter fortgeschrittene Schizonten zeigen die Kerne in zwei Reihen nach den beiden Polen angeordnet und an den Polen schon fingerförmig vorgestreckte Merozoiten aus homogenem Protoplasma, während die äquatoriale Zone eine grobwabige Struktur zeigt. Auch kommen Schizonten vor, deren Merozoiten im Halbkreise um einen Restkörper angeordnet sind. Die reifen Schizonten enthalten die Merozoiten, die *Lankesterella*-„Würmchen“ entweder in zwei Reihen nach den Polen zu oder seltener regellos in der Schizontenhülle angeordnet. Ein Restkörper ist fast immer nachweisbar.

Die fertigen Merozoiten, die sich in der Milz schon ziemlich häufig fanden, sind meist etwas kürzer und breiter als eine bewegliche *Lankesterella* (5—8 μ lang). Sie gleichen fast vollkommen den kurzen Formen, die man bei infizierten Fröschen neben der langen, beweglichen Form, die in die Erythrocyten eindringt, fast stets in der Milz vorfindet. Der Kern liegt bei den jungen Merozoiten nie genau in der Mitte, sondern stets nach dem Ende zu, das am längsten mit dem Restkörper in Verbindung gestanden hat. Er besteht meist nur aus wenigen Chromatinbrocken. Diese Tatsache ist an Delafield-Präparaten unschwer festzustellen. Anders liegen die Verhältnisse bei den mit dem launischen Heidenhain'schen Eisenhämatoxylin gefärbten jungen Merozoiten. Hier tritt der lockere Chromatinbröckchenkern ganz zurück gegenüber einem kompakten, von einem hellen Hofe umgebenen, tiefschwarz gefärbten Gebilde

das einen typischen Caryosomkern vortäuscht (Fig. 12). Es hält beim Ausdifferenzieren den Farbstoff meist viel stärker fest als die Chromatinbrocken des Kernes. Lange blieb mir unklar, was dieses Gebilde wohl bedeuten könnte. Seitz hat es als Kern der *Lankesterella* angesehen. Diese Ansicht muß aber nach meinen neuen Schizogoniebefunden schon deshalb unrichtig sein, weil der Schizont nie einen Kern mit einem so großen und so kompakten Caryosome und mit einem hellen Hofe zeigt. Auch bei den fertigen Merozoiten die noch innerhalb der Schizontenhülle liegen, findet sich im allgemeinen ein derartiges Gebilde nicht. Ihr Kern besteht vielmehr aus locker angeordneten Chromatinbröckchen, die meist einen Kreis bilden. Im Zentrum desselben läßt sich manchmal ein deutliches Körnchen nachweisen, dessen Auffinden und Deutung aber infolge der Kleinheit des Merozoitenkernes schwierig ist. In den Kernen der Schizonten habe ich es nie mit Sicherheit nachweisen können, da dort die Chromatinbrocken meist klumpig und wenig regelmäßig angeordnet sind. Da ich es in mehreren jungen freien Merozoiten aber sehr deutlich gefunden habe (Fig. 11), und da auch die Gestalt der Teilungsfigur in Fig. 6 eine solche Deutung sehr wahrscheinlich macht, vermute ich, daß es die Rolle eines Centriols spielt, wie dies Hartmann und Chagas und Muriel Robertson bei anderen Hämogregarinen nachgewiesen haben. Die Bedeutung des Seitzschen Caryosomkernes wurde mir erst dann klar, als mir beim Durchmustern eines nach Heidenhain gefärbten Milzausstriches ein Merozoit in das Gesichtsfeld kam, der zwei „Caryosomkerne“ mit hellem Hofe und zwischen beiden einen echten brockigen *Lankesterella*-Kern zeigte (Fig. 13). Jetzt war mir mit einem Male klar, daß die „Caryosomkerne“ nichts anderes vorstellen als die nach Heidenhain sich färbenden sogenanten Vacuolen der *Lankesterella*. Die Tatsache, daß die meisten Merozoiten in meinen Milzausstrichen nur einen solchen „Caryosomkern“ zeigen, beruht darauf, daß die Vacuole beim jungen Merozoiten erst auf einer Seite entsteht. Die betreffende Hälfte ist, wie ich noch begründen werde, die vom Restkörper abgewandte; in dem dem Restkörper zugekehrten, meist spitzeren Ende der jungen Merozoiten entsteht die Vacuole erst später. Die Gewißheit, daß meine Deutung richtig ist, gab mir zunächst die genaue Durchprüfung verschieden gefärbter Präparate. Das Verhalten der freien jungen Merozoiten im Heidenhain-Präparate habe ich bereits geschildert. Anders als die freien verhalten sich bei Heidenhain-Färbung im Ausstrichpräparate die noch von der Schizontenhülle umgebenen, um den Restkörper oder regellos verteilten Merozoiten

Bei ungenügender Differenzierung bleiben der Restkörper und die ganzen Merozoiten tiefschwarz. In genügend ausdifferenzierten Präparaten dagegen zeigen die Merozoiten nur ihren lockeren brockigen Kern. Von dem tiefschwarzen und von einem hellen Hofe umgebenen „Caryosomkerne“ ist keine Spur zu finden. Indessen ist in den Merozoiten das Gebilde, wie die Untersuchungen von Schnitten beweisen, vorhanden. Daran, daß es sich im Ausstrichpräparate nicht nach HEIDENHAIN färbt, ist meines Erachtens in erster Linie die Cystenhülle schuld, die dem Eindringen der Farblösung Widerstand leistet. In zweiter Linie ist aber zu beachten, daß jenes Gebilde den Farbstoff viel fester hält als der Kern, obgleich es ihn schwerer aufzunehmen scheint. Nur so kann ich mir das Ergebnis der Untersuchung der nach HEIDENHAIN gefärbten Schnitte erklären, die infolge ihrer geringen Dicke (5 μ) Gewähr dafür boten, daß jeder Schizont angeschnitten war. Hier traf ich die „Caryosomkerne“ in jedem Merozoiten an. In der Regel zeigte jeder Merozoit ungefähr in seiner Mitte eine dieser tiefschwarzen Kugeln mit hellem Hofe. Neben dieser Kugel ließ sich in weniger ausdifferenzierten Leberschnitten und zwar stets auf der dem Restkörper zugekehrten Seite, die meist in ein spitzeres Ende ausläuft, der wirkliche Kern der *Lankesterella* nachweisen. Oft fanden sich auch zwei schwarze Kugeln in den Merozoiten. Dann lag die große ziemlich in der Mitte, während die zweite, noch ganz winzige, aber auch schon von einem deutlichen hellen Hofe umgebene ganz in der dem Restkörper zugekehrten Spitze des Merozoiten lag. Zwischen beiden ließ sich manchmal eine dunklere, den Kern bezeichnende Stelle nachweisen. In den DELAFIELD-Präparaten besteht in der Färbung der Merzoiten kein Unterschied, gleichgültig, ob sich der Merozoit in der unversehrten oder angeschnittenen Schizontenhülle oder frei im Ausstriche befindet. Stets ist nur der lockere Kern gefärbt. Dieser liegt bei den jungen Merozoïten, wie ich schon auseinandergesetzt habe, nach der Spitze zu, die dem Restkörper zugekehrt war. Von den Vacuolen („Caryosomkernen“) ist nicht eine Spur zu finden, abgesehen vielleicht davon, daß sich in manchen jungen Merozoiten an einer, seltener an beiden Seiten des Kernes ein hellerer Fleck vorfindet. Diese Befunde sprechen deutlich dafür, daß die nach HEIDENHAIN-Färbung einen Caryosomkern vortäuschenden Gebilde mit den Vacuolen identisch sind und mit dem Kerne gar nichts zu tun haben. Ihr Verhalten erlaubt es uns, sichere Schlüsse auf das Alter der Merozoïten zu ziehen, in Sonderheit junge Merozoiten mit Sicherheit zu erkennen. Formen

die nach HEIDENHAIN-Färbung nur eine schwarze Kugel oder außer der großen noch eine winzige zeigen, sind jung. Formen, die zwei gleichgroße, von einem hellen Hofe umgebene Kugeln, bez. im ungefärbten Präparate Vacuolen, zeigen, sind schon herangewachsen.

Um mir über die Natur der „Vacuolen“ Aufschluß zu verschaffen, stellte ich auf Anraten des Herrn Prof. HARTMANN eine Anzahl mikrochemischer Reaktionen an. Da ich jedoch nur in Sublimatalkohol fixiertes Material hatte, konnte ich zur Prüfung auf metachromatische Körner nur eine Reaktion anstellen.

Prüfung auf Glykogen:

	Vacuolen.	Kern.
LUGOL'sche Lösung	Der Restkörper der Schizonten zeigt starke Glykogenreaktion, während sich die „Vacuolen“ der Merozoiten nur ganz hellbraun färben.	Der Kern des Merozoiten nimmt denselben Ton an wie das hellgelbe Protoplasma.
LUBARSCH'sche Methode (Karmin-Anilinwasser-Gentianaviolett-GRAM-sche Jodlösung.	Die Vacuolen nehmen ganz gleichmäßig eine bläulich-rote Färbung an.	Der Kern erscheint rot mit bläulichen Körnchen am Rande, die aber erst mit Apochr.-Imm. 2 mm und Comp.-Oc. 12 deutlich erkennbar sind.

Resultat: Der Restkörper des Schizonten enthält Glykogen. Auch am Kernrande des Merozoiten scheinen sich winzige Glykogenkörnchen vorzufinden. Die Glykogennatur der Vacuolen ist sehr zweifelhaft.

Prüfung auf metachromatische Körner:

Die Vacuolen färben sich in polychromem Methylenblau rötlichviolett bis rötlich, doch nicht weinrot.

Resultat: Die Vacuolen scheinen keine metachromatische Körner zu sein.

Nach diesen Reaktionen, denen noch keine Beweiskraft zukommt, da ich von dem betreffenden Frosche kein lebendes Material mehr zur Vornahme der fehlenden Reaktionen zur Verfügung hatte, ist es zweifelhaft, ob die „Vacuolen“ überhaupt aus einem festen Stoffe bestehende Körner sind oder ob sie echte, mit Flüssigkeit angefüllte Vacuolen sind. Die Schwarzfärbung mit HEIDENHAIN's Hämatoxylin würde meines Erachtens noch kein Gegenbeweis gegen die Vacuolennatur sein.

Meine Befunde liefern den ersten sicheren Beweis dafür, daß *Lankesterella minima* Chaussat, die erste beschriebene Hämosporidienart, eine echte Hämogregarine ist. Sie bilden ferner einen weiteren Beweis für die Verwandtschaft der Hämogregarinen mit den Coccidien wie sie durch die Arbeiten von Hartmann und Chagas, Reichenow und Robertson bewiesen worden ist. Außerdem dürfte die Ansicht von Seitz und França, *Lankesterella* gehöre zu Hartmann's Ordnung der Binucleaten, hiermit erschüttert sein. Zu untersuchen bleibt freilich noch, ob die von vielen Autoren beschriebene und abgebildete „*Dactylosoma*“-Schizogonie, die im Gegensatz zu der aller bisher genau untersuchten Hämogregarinen, ohne Schizontenhülle verläuft, in den Entwicklungskreis der von mir untersuchten Art gehört. Sollte sich bei jener Schizogonie die von França beschriebene Zweikernigkeit bestätigen, so ist anzunehmen, daß sie die multiple Teilung eines Binucleaten vorstellt.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, den Herren, die meine Arbeit gefördert haben, meinen Dank auszusprechen. Herrn Geheimrat Prof. Dr. Schmaltz bin ich zum Danke verpflichtet, weil er mir auf meine Bitte in seinem Laboratorium einen Arbeitsplatz überließ und mir alle Farbstoffe und Chemikalien zur Verfügung stellte. Herrn Prof. Dr. Hartmann möchte ich meinen Dank aussprechen für das große Interesse, das er meiner ganz privaten Arbeit entgegenbrachte, und für die freundliche Unterstützung mit technischen und wissenschaftlichen Ratschlägen.

Literaturverzeichnis.

França, C. (1908): Quelques notes sur l'Haemogregarina splendens (Labbé). Arch. do Real Inst. Bacteriol. Camara Pestana Tome II. Fasc. II.

Hartmann, M. und Chagas, C. (1910): Vorläufige Mitteilung über Untersuchungen an Schlangenhämogregarinen nebst Bemerkungen zu der vorstehenden Arbeit von E. Reichenow über Haemogregarina stepanowi. Arch. f. Protistenk. Bd. 20.

Hintze, R. (1902): Lebensweise und Entwicklung von Lankesterella minima (Chaussat). Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. Bd. 15.

Lutz, A. (1901): Über die Drepanidien der Schlangen. Ein Beitrag zur Kenntnis der Hämosporidien. Centralbl. f. Bakt. Abt. I Bd. 29.

Reichenow, E. (1910): Haemogregarina stepanowi. Die Entwicklungsgeschichte einer Hämogregarine. Arch. f. Protistenk. Bd. 20.

Robertson, M. (1910): Studies on Ceylon Haematozoa. II. Notes on the Life-Cycle of Haemogregarina nicoriae Cast. and Willey. Quart. Journ. af Micr. Sci. Vol. 55.

Seitz (1910): Zur Frage der Hartmann'schen Binucleaten. Centralbl. f. Bakt. Abt. I Bd. 56.

Tafelerklärung.

Tafel 20.

Die Zeichnungen habe ich mit Zeiss' Apochr. Imm. 2 mm und Comp. Oc. 12 mit Hilfe des Abbe'schen Zeichenapparates in Objekttischhöhe entworfen. Vergr. ca. 1950 ×. Fig. 1—8 u. 10—11 sind nach Delafield-Präparaten, Fig. 9 u. 12—13 nach Heidenhain-Präparaten gezeichnet. Die Schizontenhüllen sind in den Kanadabalsampräparaten meist nicht deutlich nachweisbar, so in Fig. 1, 3, 4, 6, 7.

Fig. 1. Einkerniger Schizont aus der Leber.

Fig. 2. Schizont nach der ersten Kernteilung. Leber.

Fig. 3. Schizont mit 4 Kernen.

Fig. 4. Schizont mit 16 Kernen. Leber.

Fig. 5. Schizont mit 24 Kernen. Intracellulär. Leber.

Fig. 6. Schizont mit 30 Kernen und einer Kernteilung. Leber.

Fig. 7. Schizont mit polar angeordneten Merozoiten. Leber.

Fig. 8. Intracellulärer Schizont mit bogenförmig um den Restkörper angeordneten Merozoiten.

Fig. 9. Fast fertig aufgeteilter Schizont.

Fig. 10—13. Merozoiten aus der Milz.

Fig. 10 u. 11 nach Delafield, Fig. 12 u. 13 nach Heidenhain gefärbt.

G. Pätz'sche Buchdr. Lippert & Co. G. m. b. H., Naumburg a. d. S.

